

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS- GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**SIMONE CRISTINA DOS SANTOS MORAES**

**A VALIAÇÃO DE PATOGENICIDADE DO FUNGO**  
**ENTOMOPATOGÊNICO *Beauveria bassiana* EM FORMIGAS**  
**DO GÊNERO *Atta* spp. UTILIZANDO APRENDIZADO DE**  
**MÁQUINA**

**PATOS DE MINAS – MG**  
**DEZEMBRO DE 2022**

**SIMONE CRISTINA DOS SANTOS MORAES**

**AVALIAÇÃO DE PATOGENICIDADE DO FUNGO  
ENTOMOPATOGÊNICO *Beauveria bassiana* EM FORMIGAS  
DO GÊNERO *Atta* spp. UTILIZANDO APRENDIZADO DE  
MÁQUINA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Mestrado Acadêmico em Biotecnologia, com vistas à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

**Orientador: Prof. Dr. Laurence Rodrigues do Amaral.**

**PATOS DE MINAS – MG**

**DEZEMBRO DE 2022**

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU  
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

M827  
2022 Moraes, Simone Cristina dos Santos, 1994-  
Avaliação de patogenicidade do fungo entomopatogênico  
Beauveria bassiana em formigas do gênero Atta spp.  
utilizando aprendizado de máquina [recurso eletrônico] /  
Simone Cristina dos Santos Moraes. - 2022.

Orientador: Laurence Rodrigues do Amaral .  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de  
Uberlândia, Pós-graduação em Biotecnologia.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2023.28>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Biotecnologia. I. , Laurence Rodrigues do Amaral,  
1978-, (Orient.). II. Universidade Federal de  
Uberlândia. Pós-graduação em Biotecnologia. III. Título.

CDU: 60

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:  
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091  
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
 Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia  
 Av. Getúlio Vargas, 230, 3º andar, Sala 308 - Bairro Centro, Patos de Minas-MG, CEP 38700-128  
 Telefone: (34) 3823-3714 - Ramal 39 - www.ppgbiotec.ibtec.ufu.br - ppgbiotec@ibtec.ufu.br



### ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Biotecnologia				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico				
Data:	23/12/2022	Hora de início:	14h00	Hora de encerramento:	16:40
Matrícula do Discente:	42012BTC011				
Nome do Discente:	Simone Cristina dos Santos Moraes				
Título do Trabalho:	Avaliação de Patogenicidade do Fungo Entomopatogênico Beauveria bassiana em Formigas do Gênero Atta spp. Utilizando Aprendizado de Máquina				
Área de concentração:	Biociências				
Linha de pesquisa:	Bioinformática e Biologia Molecular aplicada à genômica, transcriptômica e proteômica				
Projeto de Pesquisa de vinculação:					

Reuniu-se, **por meio de vídeo-conferência**, no Campus Patos de Minas, da Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, assim composta: Professores (as) Doutores (as): Prof. Dr. Pedro Luiz Lima Bertarini (FEELT/UFU), Profa. Dra. Elisa Queiroz Garcia, (UNIPAM) e Prof. Dr. Laurence Rodrigues do Amaral (FACOM/UFU), orientador da candidata.

Iniciando os trabalhos a presidente da mesa, o Prof. Dr. Laurence Rodrigues do Amaral (FACOM/UFU), apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu à Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(as) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovada.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Laurence Rodrigues do Amaral, Professor(a) do Magistério Superior**, em 23/12/2022, às 15:45, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Pedro Luiz Lima Bertarini, Professor(a) do Magistério Superior**, em 23/12/2022, às 15:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Elisa Queiroz Garcia, Usuário Externo**, em 23/12/2022, às 15:57, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://www.sei.ufu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **4137267** e o código CRC **48751CF0**.

**AVALIAÇÃO DE PATOGENICIDADE DO FUNGO  
ENTOMOPATOGÊNICO *Beauveria bassiana* EM FORMIGAS DO  
GÊNERO *Atta* spp. UTILIZANDO APRENDIZADO DE MÁQUINA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Mestrado Acadêmico em Biotecnologia, com vistas à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Aprovado em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Prof. Dr. Laurence Rodrigues do Amaral (Orientador)**

---

**Prof. Dr. Pedro Luiz Lima Bertarini (membro interno)**

---

**Profa. Dra. Elisa Queiroz Garcia (membro externo)**

**PATOS DE MINAS – MG**

**20222**

Dedico esta dissertação à minha mãe Juventina, e meu pai José Humberto, pelo incentivo, apoio, confiança e respaldo, na minha batalha psicológica diária, de vencer os meus próprios obstáculos e desafios, e jamais duvidar da minha potencialidade.

Come ride with me  
Through the veins of history  
I'll show you a god  
Who falls asleep on the job

And how can we win  
When fools can be kings  
**Don't waste your time**  
**Or time will waste you**

No one's gonna take me alive  
The time has come to make things right  
You and I must fight for our rights  
You and I must fight to survive

No one's gonna take me alive  
The time has come to make things right  
You and I must fight for our rights  
You and I must fight to survive

No one's gonna take me alive  
The time has come to make things right  
You and I must fight for our rights  
You and I must fight to survive

**Don't waste your time**  
**Or time will waste you**

**MUSE**

***“Nothing in Biology Makes Sense Except in the Light of Evolution.”***  
***Theodosius Dobzhansky***

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus** pelo dom da vida, pela paciência, pela sabedoria, pelo discernimento, e pelas infinitas bênçãos obtidas em cada passo. A partir de todas as graças, foi possível buscar forças e vencer todos os desafios que enfrentei no período de mestrado, desde problemas pessoais e familiares, até à depressão e ansiedade.

À minha mãe **Juventina Sueli do Santos**, ao meu pai **José Humberto de Moraes** e à minha querida avó **Terezinha Maria do Santos**, agradeço por todo apoio, carinho e incentivo. Por meio desses ensinamentos pude compreender que apenas com foco, esforço e dedicação é possível vencer as batalhas da vida.

Aos professores da **UFU**, Diego Leoni Franco, Enyara Rezende Moraes e Claudilene Ribeiro Chaves, gratidão por todo **ENSINAMENTO**, por todo respaldo psicológico, financeiro e pelas dilatações de prazos solicitadas na grade curricular, e, principalmente, no momento mais difícil “o trancamento de matrícula”.

A **todos meus alunos**, por me motivarem a buscar sempre novos aprendizados, e pela expressiva admiração, todas as vezes que me ouvem repetir: “que os alunos de escola pública que desejarem, assim como eu, podem ter sucesso na vida” por meio da Educação e da dedicação.

Aos **grandes amigos professores** da escola E.E. Leôncio Ferreira De Melo, obrigada pela compreensão, pela ajuda e pelo incentivo nesse período de mestrado e trabalho, que não foi fácil. Em especial à equipe diretiva **Gilma de Fátima Andrade Gontijo** e **Valkíria Barbosa Veloso Teixeira**.

Mais uma vez, e após alguns anos, agradeço à professora **Elisa Queiroz Garcia**, pela participação, orientação, pelo apoio e incentivo nessa jornada acadêmica.

Especialmente ao professor **Laurence Rodrigues do Amaral**, por me ensinar sonhar sem enlouquecer. Sua orientação, foi essencial para que esse projeto, de anos, pudesse acontecer, muito obrigada pela paciência, calma e confiança.

## RESUMO

A aplicação de agrotóxicos aumenta a produtividade agrícola, mas o uso frequente e intensivo gera múltiplas externalidades desfavoráveis. O Controle Biológico, surgiu como alternativa em relação aos métodos químicos, e atualmente apontam números expressivos no mercado mundial de agricultura. Esse método utiliza inimigos naturais, com o intuito de minimizar a presença de resíduos nocivos à saúde humana, espécies de fauna e flora e ao meio ambiente. O fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* é comumente utilizado no controle de insetos-pragas, no entanto, uma dosagem recomendada para controlar formigas cortadeiras do gênero *Atta spp.*, ainda não foi relatada. Diante disto, este trabalho avaliou a patogenicidade desse fungo por meio do uso de Aprendizado de Máquina. Os dados apresentados, foram extraídos de um trabalho de Controle Biológico Artificial, realizado em condições de laboratório no ano de 2018. Os bioensaios foram realizados com a aplicação do biopesticida Boveril®. Como não existe uma dosagem recomendada de *Beauveria* para *Atta spp.*, as concentrações foram preparadas de acordo com a recomendação para a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*). A partir dos resultados obtidos, foi construído um conjunto de dados, trazendo informações sobre a dosagem utilizada em cada tratamento, e quantos dias levaram para exterminar uma determinada porcentagem de formigas. A árvore de decisão foi gerada pelo *software* Weka, versão 3.6.11. Os valores obtidos por meio de Aprendizado de Máquina, encontrou um padrão de dosagem do Boveril® e um resultado significativo que conseguiu aliar eficiência na morte das formigas na maior quantidade de dias possível.

**Palavras-chave:** Controle Biológico, *Atta spp.*, *Beauveria bassiana*, Aprendizado de Máquina.

## ABSTRACT

The application of pesticides increases agricultural productivity, but frequent and intensive use generates multiple unfavorable externalities. Biological Control, emerged as an alternative to chemical methods, and currently shows significant numbers in the world agricultural market. This method uses natural enemies, in order to minimize the presence of harmful residues to human health, fauna and flora species and the environment. The entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* is commonly used to control insect pests, however, a recommended dosage to control leaf-cutting ants of the genus *Atta* spp., has not yet been reported. In view of this, this work evaluated the pathogenicity of this fungus through the use of Machine Learning. The data presented were extracted from an Artificial Biological Control work, carried out under laboratory conditions in the year 2018. The bioassays were carried out with the application of the biopesticide Boveril®. As there is no recommended dosage of *Beauveria* for *Atta* spp., the concentrations were prepared according to the recommendation for the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*). From the results obtained, a dataset was built, bringing information about the dosage used in each treatment, and how many days it took to exterminate a certain percentage of ants. The decision tree was generated by the Weka software, version 3.6.11. The values obtained through Machine Learning, found a Boveril® dosage pattern and a significant result that was able to combine efficiency in the death of the ants in as many days as possible.

**keywords:** Biological Control, *Atta* spp., *Beauveria bassiana*, Machine Learning.

## LISTA DE SÍMBOLOS

**%:** Porcentagem.

**°C:** Grau celsius.

**g:** Grama.

**g/L:** Grama por litro.

**Kg:** Quilograma.

**L:** Litro.

**mL:** Mililitro.

**mm:** Milímetro.

**µm:** Micrômetro.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>ANVISA:</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
<b>AM:</b>	Aprendizado de Máquina.
<i>B.bassiana:</i>	<i>Beauveria bassiana.</i>
<b>ARA:</b>	Avaliação de Risco Ambiental.
<b>CAGR:</b>	Taxa de crescimento anual composta.
<b>CB:</b>	Controle Biológico.
<b>FAO:</b>	Organização para a Alimentação e Agricultura.
<b>FL:</b>	Fermentação de <i>B.bassiana</i> em meio líquido.
<b>FS:</b>	Fermentação de <i>B. bassiana</i> em meio sólido.
<b>FSS:</b>	Fermentação de <i>B. bassiana</i> em meio semissólido.
<b>GENEB:</b>	Laboratório de Genética e Biotecnologia.
<b>IA:</b>	Inteligência Artificial.
<b>IA:</b>	Kg de ingrediente Ativo.
<b>IBAMA:</b>	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis.
<b>MAPA:</b>	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
<b>NCBI:</b>	National Center for Biotechnology Information.
<b>NIH:</b>	National Library of Medicine.
<b>ONU:</b>	Organizações das Nações Unidas.
<b>PAP:</b>	Pesticidas Altamente Perigosos.
<b>PBC:</b>	Produtos Biológicos de Controle (PBC)
<b>PPA:</b>	Avaliação do Potencial de Periculosidade Ambiental.
<b>SCI:</b>	Sistemas Computacionais Inteligentes.
<b>SE:</b>	Serviço Ecológico.
<b>UNIPAM:</b>	Centro Universitário de Patos de Minas.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Produção e comercialização de microbiológicos no Brasil, IBAMA, 2020. ....	23
Tabela 2 - Países e estados da América do Sul, onde o fungo <i>B.bassiana</i> foi reportado. ....	44

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mercado de controle biológico: taxa de crescimento por região em %, global. 2007-2022. ....	22
Figura 2 - Registros de Agrotóxicos e Afins de Baixo Risco, período de 2001- 2021. ....	24
Figura 3- Representação esquemática de epizootia e enzootia causadas por microrganismos em populações de artrópodes.....	28
Figura 4 - Agentes biológicos utilizados na agricultura. ....	29
Figura 5 - Ciclo de vida dos parasitoides, em diversas espécies de insetos. ....	30
Figura 6 - Exemplos Insetos predadores e suas presas. ....	31
Figura 7 - Modo de ação das toxinas Bt em lagartas. ....	33
Figura 8- (A) Lagarta de <i>Erinnyis ello</i> (Lepidoptera: Sphingidae). (B) Lagarta de <i>Erinnyis ello</i> morta com sintomas característicos de infecção por <i>Baculovirus erinnyis</i> . ....	34
Figura 9 - Abertura de um cadáver de <i>Galleria mellonella</i> infectado. ....	35
Figura 10 - Etapas do processo patógeno-hospedeiro. Adesão e germinação (A); penetração (B); colonização (C); reprodução (D); e disseminação (E). ....	37
Figura 11 - Forma dos conídios das dezessete espécies de <i>Beauveria</i> sp. ....	39
Figura 12 - Colônia do fungo entomopatogênico <i>B. bassiana</i> (Vuill.) (A); e <i>Sternocoelus</i> sp. infectado pelo <i>B. bassiana</i> sp. (B). ....	40
Figura 13 - Esporos e conídios da infecção por <i>B.bassiana</i> em formigas de <i>Atta</i> spp., linhagem ESALQ PL63 produzido pela empresa Koppert Ltda., com o nome comercial Boveril®, utilizado nos bioensaios dessa pesquisa. ....	41
Figura 14 - Crescimento do fungo entomopatogênico <i>Beauveria bassiana</i> : (A) condições aeróbicas e condições anaeróbicas (B). ....	41
Figura 15 - <i>B. bassiana</i> colonizando diversos hospedeiros:.....	43
Figura 16 - Cenário das formas de produção de <i>Beauveria</i> spp., nos últimos 10 anos. ....	45
Figura 17 - Representação esquemática do ciclo de vida de uma colônia de formigas. ....	47
Figura 18 - Principais subfamílias de Formicidae. ....	48
Figura 19 - Exemplar do gênero <i>Acromyrmex</i> . ....	50
Figura 20 - Exemplar do gênero <i>Atta</i> . ....	50

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	18
REFERENCIAL TEÓRICO.....	21
Controle Biológico de pragas – Breve Histórico.....	21
Métodos de Controle Biológico.....	25
Controle Biológico Natural .....	26
Controle Biológico Clássico.....	26
Controle Biológico Aplicado.....	27
Agentes de Controle Biológico.....	27
Macrobiológicos (parasitoides e predadores).....	29
Microbiológicos (bactérias, vírus, nematoides e fungos).....	32
O fungo entomopatogênico <i>Beauveria bassiana</i> .....	38
Família Formicidae.....	46
Subfamília Myrmicinae .....	49
Inteligência Artificial.....	51
ARTIGO.....	51
CONCLUSÃO.....	56
REFERÊNCIAS .....	57

## INTRODUÇÃO

A Lei n.º 7.802, de 11 de junho de 1989 (Brasil, 1989), regulamentada atualmente pelo Decreto n.º 4.074, de 4 de janeiro de 2002 (Brasil, 2002), define agrotóxico como:

Os produtos e os agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos bem como substâncias e produtos, empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento e os princípios ativos, os produtos técnicos, suas matérias-primas, os ingredientes inertes e aditivos usados na fabricação de agrotóxicos e afins (BRASIL, 1989; BRASIL, 2002).

A aplicação de agrotóxicos aumenta a produtividade agrícola, no entanto, o uso frequente e intensivo gera múltiplas externalidades desfavoráveis (MORAES, 2019). Dentre os agrotóxicos, os pesticidas são muito utilizados no território nacional. De acordo com a Organização para a Alimentação e Agricultura (FAO), o Brasil ocupa o terceiro lugar no ranking de utilização de pesticidas, estando atrás dos Estados Unidos e da China, respectivamente, e destaca-se na compra de Pesticidas Altamente Perigosos (PAP) (FAO, 2022), que envolvem maiores riscos ambientais.

No Brasil, a regulamentação de pesticidas envolve três órgãos autônomos responsáveis pelo seu registro, denominados tripla análise: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). Estes órgãos avaliam o risco de eficiência agrônômica, riscos à saúde e ao meio ambiente respectivamente (BRASIL, 2012).

Atualmente, o IBAMA avalia os agrotóxicos em duas etapas: (1) Avaliação do Potencial de Periculosidade Ambiental (PPA) de Agrotóxicos e Afins e ,(2) Avaliação de Risco Ambiental (ARA).

A primeira etapa (PPA) utiliza um sistema desenvolvido pelo órgão que consiste num “ranqueamento” ou “scoring system”. Esta etapa tem a finalidade de selecionar substâncias, e compará-las e de acordo com a classificação de cada produto por unidade de (Kg de ingrediente Ativo) – IA, e advertir os usuários sobre a uso seguro do produto, classificando-os em:

- **Classe I - Produto ALTAMENTE PERIGOSO** ao meio ambiente;

- **Classe II** - Produto **MUITO PERIGOSO** ao meio ambiente;
- **Classe III** - Produto **PERIGOSO** ao meio ambiente; e,
- **Classe IV** - Produto **POUCO PERIGOSO** ao meio ambiente.

A segunda etapa (ARA) tem como objetivo, analisar a probabilidade da ocorrência de efeitos nocivos, mediante as condições de aplicações dos produtos, para averiguar o potencial de exposição de organismos não-alvo. Com isto, é possível obter informações precisas dos efeitos dos produtos para tomada de decisões pelo órgão, afim de reduzir os danos negativos ao meio ambiente (IBAMA, 2021).

Desde 2009, o IBAMA divulga boletins anuais sobre vendas de pesticidas, produção, importação e exportação, com base em dados fornecidos por meio de relatórios apresentados pelas empresas detentoras de registro, conforme a exigência do art. 41 do Decreto nº 4.074, de 4/1/2002 (IBAMA, 2021; BRASIL, 2002). O boletim de (PPA) de 2020, divulgado em agosto de 2021, apresenta números expressivos e preocupantes de pesticidas de Classe I, II e III, totalizando 97,85% dos registros nesse ano, o percentual por classe é de 2,14%, 37,14% e 58,57% respectivamente (IBAMA, 2021).

Esse cenário, agrava imensamente problemas relacionados ao meio ambiente, teia alimentar, na saúde humana e desencadeia vários outros. Diante disto, o Controle Biológico de pragas pode ser empregado como alternativa para minimizar o uso indiscriminado de Pesticidas Altamente Perigosos (PAP) e do Potencial de Periculosidade Ambiental (PPA) de Agrotóxicos e Afins. Este método utiliza inimigos naturais, tais como predadores e parasitoides, e micro patógenos como vírus, bactérias e fungos, com o intuito de minimizar a presença de resíduos nocivos à saúde humana, espécies de fauna e flora e ao meio ambiente (PARRA et al., 2021).

O Controle Biológico (CB), realizado por meio de micro patógenos, remontam ao início do século XX, e surgiu como uma alternativa em relação aos métodos químicos (SILVA et al., 2022). Atualmente, os biospeticidas desenvolvidos por meio desses patógenos apontam números expressivos no mercado mundial de agricultura (SOUSA, 2022). Esse crescimento está correlacionado com a empregabilidade de Sistemas Computacionais Inteligentes (SCI), que possuem a capacidade de analisar dados gerados em laboratórios e/ou em campo, por meio de outras perspectivas que vão além da observação humana e de métodos de Estatística Básica (DIAS; PASCUTTI; DA SILVA, 2016).

Nesse panorama, a Inteligência Artificial (IA) é formada por vários campos de pesquisa, tendo como principais: o Aprendizado de Máquina (*Machine Learning*) e o Processamento de

Linguagem Natural (*Natural Language Processing*). O Aprendizado de Máquina tem como intuito realizar previsões a partir de conjuntos de dados na busca de padrões existentes nestes conjuntos de dados (DUC et al., 2019; PANESAR et al., 2020).

Portanto, é importante integrar métodos de análises para otimizar a eficiência da empregabilidade do Controle Biológico. Por meio de um estudo realizado em laboratório, pretende-se verificar se métodos de Aprendizado de Máquina podem trazer informações complementares agregando conhecimento em futuras aplicações em campo.

A utilização de biopesticidas apontam inúmeros benefícios quando comparado ao controle químico (ARAÚJO, 2022). Os autores Parra et al. (2021), Figueiredo (2022) e Donley et al. (2022) relatam a necessidade imediata de maior fiscalização do uso de produtos químicos pois os mesmos acarretam externalidades negativas. Dessa maneira, esse trabalho propõe investigar se os métodos de Aprendizado de Máquina (AM), principalmente as árvores de decisão, podem ser aplicados aos dados gerados em experimentos laboratoriais, buscando encontrar padrões de eficiência ao Controle Biológico Artificial, utilizando o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*.

O presente trabalho tem o objetivo de avaliar a patogenicidade do fungo *Beauveria bassiana* por meio do uso do Aprendizado de Máquina (AM). Os dados gerados e utilizados nesta pesquisa científica utilizaram a técnica de Controle Biológico Artificial em condições de laboratório, no decorrer do ano de 2018.

Apresentada a relevância do uso do Aprendizado de Máquina, é válida a sua aplicação na análise de dados relativos ao Controle Biológico, que visam a segurança alimentar, produtividade agrícola e sobretudo a preservação do meio ambiente e da saúde humana. Desse modo, o Aprendizado de Máquina é uma ferramenta estratégica para avaliar os promissores resultados da pesquisa intitulada “Avaliação de patogenicidade do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* em formigas do gênero *Atta* spp. em condições de laboratório”, para que os dados obtidos sejam analisados por meio de outras perspectivas que vão além da observação humana e de métodos de Estatística básica. Não apenas contribuindo para que seja possível a aplicação desses resultados como também futuramente em campo, corroborando com técnicas que não prejudiquem, ainda mais, a Biosfera do planeta Terra.

## REFERENCIAL TEÓRICO

### *Controle Biológico de pragas – Breve Histórico*

O controle biológico (CB) é um fenômeno natural no qual populações de espécies são controladas por outras espécies geralmente denominadas inimigas naturais, portanto, todo organismo vivo, inclusive, as espécies pertencentes ao Reino Plantae, possuem seu agente de mortalidade biótica (PARRA, 2019). Este método utiliza inimigos naturais, tais como predadores e parasitoides e micro patógenos como vírus, bactérias e fungos, com o intuito de minimizar a presença de resíduos nocivos à saúde humana, espécies de fauna e flora e ao meio ambiente (PARRA et al., 2021).

A nomenclatura Controle Biológico, foi utilizada pela primeira vez em 1919 pelo pesquisador Harry S. Smith da universidade da Califórnia, quando se referiu “a supressão de populações de insetos pela ação de seus inimigos naturais nativos ou introduzidos” (SMITH, 1919; FONTES et al., 2020).

O entomologista DeBach (1968), definiu o termo de Controle Biológico como “a ação de parasitoides, predadores e patógenos na manutenção da densidade de outro organismo a um nível mais baixo do que aquele que normalmente ocorreria nas suas ausências”. Historicamente o CB, data do século III a.C, quando os chineses observaram que as formigas predadoras (*Oecophylla smaragdina*) reduziavam as populações de lepidópteros desfolhadores e coleobrocas de citrus (NAVA, 2007). Em 1602, Aldrovandi registrou o primeiro CB com parasitoides, relatando o parasitismo da lagarta-das-crucíferas (*Pieris* sp.) por *Apanteles glomeratus* (NAVA, 2007). Na década de 1980, os primeiros trabalhos com micro patógenos (fungos entomopatogênicos) foram documentados. Agostinho Bassi demonstrou a infecção da lagarta bicho-da-seda (*Bombix mori*), causada pelo fungo posteriormente conhecido como *Beauveria bassiana* (STEINHAUS, 1975; FINKLER, 2013). Elie Metchnikoff isolou o fungo *Metarhizium anisopliae* para controlar o besouro dos grãos em plantações de cereais (STOCKDALE, 1992; LORD, 2005).

O primeiro grande marco do Controle Biológico foi registrado no final da década de 80, com a introdução da mosca *Cryptochaetum iceryae* e do besouro *Rodolia cardinalis* para controle de cochonilhas *Icerya purchasi*, em pomares citros no estado da Califórnia, EUA (BARRATT et al., 2018). No entanto, no decorrer da década de 90, a ascensão do CB, mudou drasticamente. Segundo Carson (2015), o uso de agrotóxicos sintéticos, foram ovacionados, a

ponto que o uso de biocontrole de pragas praticamente desaparecesse até a publicação do livro 'Silent Spring', que denunciava explicitamente o uso de defensivos agrícolas, resultando em um protesto, que retornou a atenção ao uso de maiores aplicações de CB, em diversas culturas, em inúmeros continentes (BARRATT et al., 2010; GAY, 2012; BARRATT et al., 2018).

Após, o “período das trevas do CB”, os trabalhos seguintes apresentaram constante evolução e resultados significativos (MORDOR INTELLIGENCE, 2022). Diante os fatos, a medida em que os avanços técnicos científicos foram evoluindo ao passar dos anos, ferramentas disponíveis para o CB com o auxílio do Manejo Integrado de Pragas (MIP), resultaram em discussões e debates de diferentes autores (FONTES et al., 2020). Com isso, Heimpel e Mills (2017) redefiniram o significado de CB, como: “tipo de Controle Biológico que adota e incluem interações diretas e indireta no meio de populações de organismos-alvo, agentes de controle biológico, seres humanos e seus recursos” (FONTES et al., 2020).

Haja vista os impasses do século anterior (BARRATT et al., 2018), de acordo com o relatório elaborado pela empresa *Mordor Intelligence* (2022), a taxa de crescimento mundial anual composta (CAGR) projeta um crescimento de 14,7%, em termos de valor de US\$ mil durante o período de previsão (2022-2027). Todavia, a estimativa de crescimento era projetada para alcançar maiores índices em 2019. No entanto, assim como em outros setores, o crescimento de CB obteve impactos negativos durante a Pandemia de Covid-2019, as restrições de viagens e os bloqueios globais de modo geral e significativo, diminuíram a disponibilidade e acessibilidade de agentes de controle biológico no mercado (MORDOR INTELLIGENCE, 2022).

Na conjuntura atual, a América do Norte concentrou todo o mercado de CB no ano base de 2021 (Figura 1). Os Estados Unidos se destacaram com a utilização de biopesticidas, consagrando uma porcentagem de mais de 50% em relação a outros países desse continente, devido à abundância de terras aráveis disponíveis, e também, por deter um setor agrícola eminentemente evoluído e adaptado a um regime de cultivar natural e orgânico (MORDOR INTELLIGENCE, 2022). Em contrapartida, no Canadá esse índice se mantém elevado devido às recentes alterações nas leis municipais e de províncias, que promovem a promoção de produtos de controle de pragas de menor riscos na agricultura convencional, e destaca os baixos custos da utilização de biopesticidas em relação aos defensivos sintéticos e químicos (MORDOR INTELLIGENCE, 2022).

Figura 1 - Mercado de controle biológico: taxa de crescimento por região em %, global. 2007- 2022.



Fonte: Adaptado de *Mordor Intelligence*, 2022.

Em relação ao mesmo período de tempo, na América do Sul, os dados se divergem drasticamente. Em 2020, o relatório de comercialização de agrotóxicos do IBAMA (Tabela 1), apresentou apenas 2,15% de registros de produtos Classe IV. Esses dados, não demonstram um bom cenário sustentável para o Brasil, uma vez que os agrotóxicos de classe I, II e III somam 97,85% de vendas e consumos de produtos PPA (IBAMA, 2021).

Tabela 1 - Produção e comercialização de microbiológicos no Brasil, IBAMA, 2020.

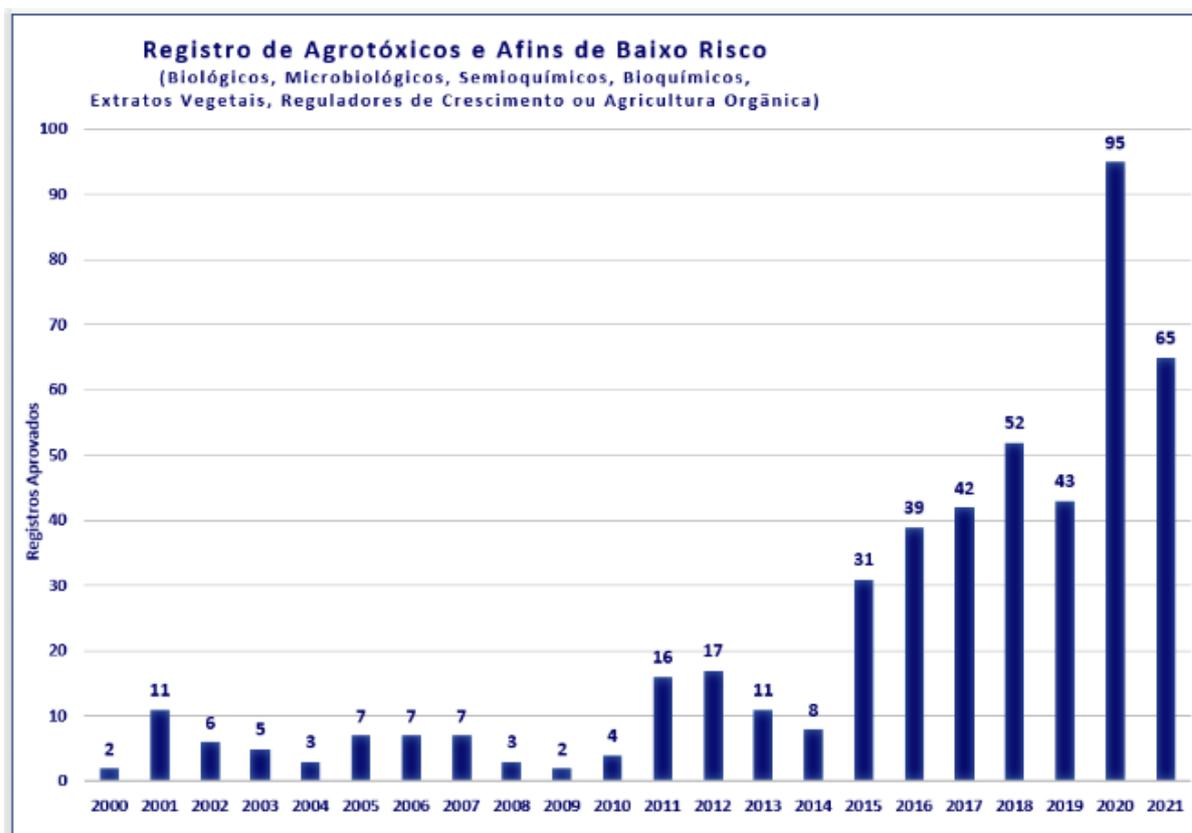
<b>Microbiológicos (Unidade: Kg de Ingrediente Ativo – IA)</b>		
<b>Produção (Kg)</b>	<b>Importação (Kg)</b>	<b>Exportação (Kg)</b>
480.388,784	213.177,924	5.289,607
<b>Ingredientes ativos (nomes):</b>		
<i>Autographa californica multiple nucleopolyhedrovirus</i>	<i>Baculovirus anticarsia</i>	<i>Isaria fumosorosea</i>
<i>Bacillus methylotrophicus</i>	<i>Baculovirus chrysodeixis includens</i>	<i>Metarhizium anisopliae</i>
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	<i>Baculovirus spodoptera frugiperda</i>	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>
<i>Bacillus firmus</i>	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Paecilomyces lilacinus</i>
<i>Bacillus linheniformis</i>	<i>Chrysodeixis includens nucleopolyhedrovirus</i>	<i>Pochonia chlamydosporia</i>
<i>Bacillus pumilus</i>	<i>Helicoverpa armigera nucleopolyhedrovirus (nearnpv)</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Helicoverpa zea nucleopolyhedrovirus (vpn-hzsnpv)</i>	<i>Trichoderma asperellum</i>
<i>Bacillus thuringiensis</i>	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	<i>Trichoderma harzianum rifai</i>

Fonte: Adaptado de Ibama, 2021.

Por outro lado, as perspectivas de crescimento do mercado de agrotóxicos de baixo risco no Brasil, são animadoras. Em conformidade com os últimos boletins divulgados pelo MAPA,

no ano de 2020 o Brasil alcançou o recorde de registro de biopesticidas, foram registrados 95 produtos. Desde esse marco, o MAPA adotou a estratégia de priorizar o registro de defensivos de baixo impacto, acelerando as aprovações. Hoje em dia, agrotóxicos químicos necessitam de uma média de cinco anos para ser registrado, diante as priorizações adotadas, um produto de base biológica não leva 12 meses. Com isso, em 2021 foram registrados 65 produtos dessa classe (Figura 2) (MAPA, 2022).

Figura 2 - Registros de Agrotóxicos e Afins de Baixo Risco, período de 2001- 2021.



Fonte: MAPA, 2022.

Todos os países do mundo operam financeiramente de acordo com fragmentos produtores de cada potência comercial – pequeno, médio e grande produtor. O mercado atual de Controle Biológico, apresenta classes diversas de players e as transações financeiras divergem valores de mercado em relação aos países em que os bioprodutos são comercializados. Ainda de acordo a empresa *Mordor Intelligence* (2022), o mercado de controle biológico é dominado pelas empresas: 1) Certis Biologicals – Columbia, Estados Unidos (<https://www.certisbio.com/about-certis-biologicals>), 2) BASF SE - Ludwigshafen, Alemanha (<https://www.basf.com/global/en.html>), e 3) Sumitomo Corporation – Tóquio, Japão

(<https://www.sumitomocorp.com/en/jp>) detém a segunda e a terceira maiores participações de mercado, respectivamente.

Tratando-se da América Latina, os grandes players atuais são as empresas Koppert Biological Systems e BUG Agentes Biológicos. Ambas atuam no Brasil desde 2011 e 2001 respectivamente e são sediadas em Piracicaba/SP. A BUG obteve reconhecimento internacional em 2012, sendo eleita pela revista Fast Company®, como a empresa mais inovadora do Brasil e a 33ª no mundo. Em 2013 se tornou a primeira empresa da América Latina a integrar o grupo Pioneiros da Tecnologia do Fórum Econômico Mundial. Em 2016, recebeu o Prêmio Nanocell de Empresa de Biotecnologia Empreendedora do Ano no Brasil, pelo seu trabalho em CB em nível mundial. Em 2017, a Koppert anunciou a aquisição da BUG, na época o diretor da Koppert Brasil, Danilo Pedrazzoli, “a aquisição representa a expansão de um negócio com alto potencial no mercado de Controle Biológico Tropical, onde serão aplicados os conhecimentos adquiridos pela Koppert nos últimos 50 anos em produção em larga escala de macroorganismos, o DNA da empresa, em uma estrutura pronta para serem implementados (KOPPERT DO BRASIL, 2017).

Perante as externalidades negativas e positivas apresentadas, podemos concluir que o histórico de Controle Biológico, ainda tem um próspero caminho a seguir. Na data de 15 de novembro de 2022, a Organização das Nações Unidas (ONU) reportou que a população mundial atingiu 8 bilhões de pessoas (ONU, 2022). Diante disso, alternativas como o CB, asseguram uma alimentação orgânica, com o mínimo de risco para a saúde humana e para os ecossistemas terrestres e aquáticos, sendo de suma importância para preservar a biosfera do planeta para as gerações futuras, para que esse equilíbrio ecológico seja aperfeiçoado e mantido.

### ***Métodos de Controle Biológico***

Simplificando, atualmente três tipos diferentes de Controle Biológico são conhecidos: Natural, Clássico e Aplicado (VAN LENTEREN et al., 2018). As técnicas utilizadas em cada um dos procedimentos de controle citadas anteriormente, são: 1- conservação (Controle Biológico Natural ou Conservador), 2- introdução (Controle Biológico Clássico), e 3 – multiplicação (Controle Biológico Aplicado ou Aumentativo) (PARRA e COELHO, 2022). Ainda de acordo com os mesmos autores, em todas as técnicas é imprescindível que o inimigo natural seja criado em laboratório, pois, os diferentes estágios de vida são fundamentais para as estratégias de diversos programas de CB.

### ***Controle Biológico Natural***

O Controle Biológico Natural ou Conservador, é um serviço ecossistêmico (SE). Por meio desse CB, os organismos alvo-pragas são reduzidos naturalmente por organismos benéficos (REID et al., 2005). Segundo Van Lenteren et al. (2018), esse controle é contínuo e ocorre em todos os ecossistemas terrestres, sem interferências antrópicas e, em fins econômicos, é o maior ônus para a agricultura mundial (WAAGE e GREATHEAD, 1988). Além disso, esse controle é favorecido quando agrotóxicos seletivos são introduzidos por meio do Manejo Integrado de Pragas (MIP) (SILVA e BRITO, 2015).

De acordo com Parra et al. (2002), o CB Natural ou Conservador deve atender alguns conceitos básicos de controle. Os predadores ou parasitoides devem ser preservados e se possível, aumentar o número de indivíduos no campo. Portanto, é necessário que a manipulação dos agentes seja precedida de forma favorável no ambiente, utilizando biopesticidas seletivos em épocas adequadas, reduzir dosagens de produtos químicos e evitar práticas culturais inadequadas, além de preservar o habitat ou fontes de alimentação para inimigos naturais, afim, de manter o equilíbrio de pragas.

### ***Controle Biológico Clássico***

No Controle Biológico Clássico, os inimigos naturais são importados e colonizados de uma área de exploração (eventualmente nativas), e posteriormente são liberados em áreas que comportam as pragas invasoras (VAN LENTEREN et al., 2018). Segundo Parra (2014), as liberações podem ser inoculativas, ou seja, realizadas por meio de um pequeno número de insetos, por uma ou mais vezes no mesmo local. Além disso, esse foi o primeiro tipo de CB utilizado e praticado em escala mundial, assim esse método foi reconhecido como “CB Clássico” (DEBACH, 1964).

Desta maneira, o CB Clássico é classificado como um método de longo prazo, e em muitas vezes resulta na redução permanente da população de pragas, uma vez, que a população de inimigos naturais tende a aumentar com o passar do tempo. Esse controle se aplica em culturas semiperenes ou perenes e florestas e, ainda resulta em gigantescos benefícios econômicos (PARRA, 2014; VAN LENTEREN et al., 2018).

## ***Controle Biológico Aplicado***

O Controle Biológico Aplicado ou Aumentativo, é executado por distintos inimigos naturais, tais como: microrganismos, parasitoides e predadores (VAN LENTEREN et al., 2018). Nesse caso, os insetos são produzidos em massa e são soltos simultaneamente em determinada área, afim de obter controle imediato das pragas. Portanto, esse método se assemelha a aplicação de produtos químicos (PARRA, 2014).

Além disso, de acordo com os autores Cock et al. (2010), Lorito et al. (2010); Parnell et al. (2016), Van Lenteren (2012) e Van Lenteren et al. (2018), esse tipo de controle de pragas é dividido em dois tipos de aplicação: 1- Controle Biológico Inundativo (destinado a culturas que possuem um ciclo curto de reprodução), e 2- Controle Biológico Inoculativo Sazonal (estabelecido para o controle dos diferentes tipos de gerações reprodutivas em culturas de ciclo longo de reprodução).

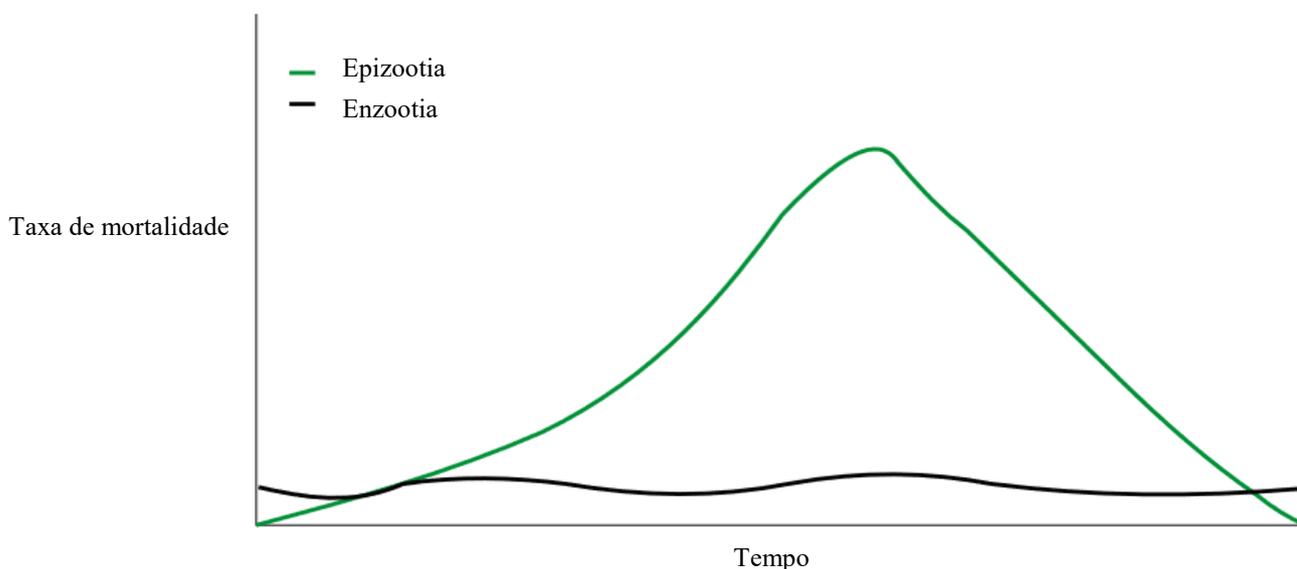
## ***Agentes de Controle Biológico***

Steinhaus (1949), em seu estimado livro 'Principles of Insect Pathology', definiu a palavra “doença” como a alteração do estado comum de saúde, ou seja, quando determinado organismo não é mais capaz de realizar completamente suas funções vitais para sobrevivência, manutenção, crescimento ou multiplicação. As doenças podem apresentar natureza infecciosa ou não infecciosa, no entanto, as de natureza infecciosa estão relacionadas com microrganismos vivos, que são habitualmente utilizados para o controle de pragas florestais e agrícolas em âmbito mundial (FONTES et al., 2020).

O termo “patogenicidade” de acordo com Shapiro-Illan et al. (2005), corresponde à habilidade de um macro ou micro-organismo provocar uma doença, enquanto o termo “virulência” atribui-se ao grau de patogenicidade, isso é, um valor mensurável, indicado para realizar comparações de strains ou isolados dentro de um grupo ou espécie. Com isso, a atividade de uma doença pode assumir um padrão enzoótico (endêmico) e epizootico (epidêmico). Esses termos referem-se às doenças que ocorrem com baixa prevalência e alta prevalência respectivamente, reduzindo a proporção de hospedeiros infectados em determinado momento e de modo quase permanente em uma população (Figura 3). As epizootias podem desfavorecer a dinâmica populacional de pragas florestais e agrícolas, e podem ocorrer

naturalmente na natureza ou por ação antrópica (aplicação de biopesticidas) (FONTES et al., 2020).

Figura 3- Representação esquemática de epizootia e enzootia causadas por microrganismos em populações de artrópodes.



Fonte: Adaptado de Fontes et al., 2020.

O mercado de Controle Biológico é segmentado por áreas multidisciplinares: 1) entomopatogênicos, nematoides e bactérias; 2) patógenos alvos: microrganismos, ervas daninhas e diversas espécies de artrópodes; 3) aplicações: tratamento de sementes em laboratório e campo, em períodos de pré e pós-colheita; 4) dispersão direta: cereais e grãos; 5) Leguminosas e Oleaginosas; entre outros cultivos predominantes em todos os continentes do mundo, exceto as regiões polares (MORDOR INTELLIGENCE, 2022).

Na conjuntura atual, os organismos microbiológicos são comumente utilizados para o controle de pragas em inúmeras culturas alimentares ao redor do mundo. A aplicação desses organismos de controle é realizada por encharcamento, pulverização (drones, máquinas agrícolas e outros) ou são aplicados diretamente nas raízes das plantas na forma de pastilha, revestindo sementes ou tratando a raiz no estágio de pré-semeadura (THAKUR et al., 2020).

Dado o exposto, atualmente os agentes de controle biológico entregam para o setor agrícola um alto grau de equilíbrio populacional em meio as diversas espécies de organismos vivos. Segundo Parra (2019), a busca constante por organismo de CB fomentou o crescimento anual de 10-15% por ano em todo mundo, buscando novos agentes, além dos micros e macroorganismos, e com isso, já são utilizados: Biofertilizantes, Bioestimulantes e Bioagentes

que são formulados a partir de micro e macro-organismos, semioquímicos, bioquímicos e extratos de plantas (Figura 4).

Figura 4 - Agentes biológicos utilizados na agricultura.



Fonte: Adaptado de CropLifeBrasil., 2020.

### ***Macrobiológicos (parasitoides e predadores)***

Segundo Parra et al. (2021), insetos parasitoides são aqueles que matam seus hospedeiros, e além disso, necessitam de apenas um único hospedeiro para concluir o seu ciclo de vida. São parasitas durante a fase de desenvolvimento larval, sendo que o adulto tem vida livre. Atualmente, são catalogadas cerca 200 mil espécies de parasitoides em diversos continentes do globo terrestre, distribuídos principalmente nas ordens Hymenoptera e Diptera (MEYER et al., 2022).

O ciclo vital dos parasitoides inicia-se pela oviposição da fêmea que pode ser externa ou interna, sendo essa última comumente observada em Himenópteros que alocam seus ovos em meio de componentes que auxiliam o parasitismo, tais como vírus, venenos ou teratócitos (células nutritivas). Em seguida, o desenvolvimento é categorizado em Endoparasitoides: os estágios imaturos do parasitoide é finalizado no interior do corpo do hospedeiro. Ectoparasitoides: ocorre externamente com as larvas aderidas ao tegumento do hospedeiro do qual estão se alimentando (Figura 5) (PARRA et al., 2021; FONTES et al., 2020).

Figura 5 - Ciclo de vida dos parasitoides, em diversas espécies de insetos.

*Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae), endoparasitoide idiobionte que parasita ovos de Lepidoptera (**A**); *Diaeretiella rapae* (Mcintosh, 1855) (Hymenoptera: Braconidae) – endoparasitoide de pulgões (Hemiptera: Aphididae) (**B**); *Cotesia* sp. (Hymenoptera: Braconidae) – ectoparasitoide cenobionte de larvas de Lepidoptera (**C**); *Hexacladia smithii* (Hymenoptera: Encyrtidae) – endoparasitoide idiobionte de adultos de percevejos (Hemiptera: Pentatomidae) [fêmea do parasitoide (**D1**), macho do percevejo marrom, *Euschistus heros* (Fabricius, 1798), com larvas de *H.smithii* no abdome (**D2**), orifício de saída no abdome do hospedeiro onde emergiram os adultos (**D3**), com um indivíduo emergindo (**D4**), indicados por setas]; e larva do endoparasitoide *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson, 1880) (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) em desenvolvimento no pulgão *Aphis gossypii* Glöver, 1877 (Hemiptera: Aphididae) [larva no interior do corpo do hospedeiro (**E1**), larva extraída do hospedeiro, com seta indicando a presença de teratócitos no extremo caudal da larva (**E2**)].



Fonte: Adaptado de Fontes et al., 2020.

Alguns trabalhos como Costa et al. (2006), Fontes et al. (2020) e Meyer et al. (2022), os classificam ainda em parasitoides solitários e gregários, estes respectivamente necessitam de apenas um e múltiplos hospedeiros para se desenvolver. Os mesmos autores, subdividem os parasitoides conforme o conjunto de hospedeiros viáveis. Portanto, quando uma determinada espécie de parasitoide ataca um grupo restrito de espécies hospedeiras, são considerados especialistas. Ao parasitar um vasto número de hospedeiros é considerado generalista.

No Brasil, são registrados inúmeros casos de sucesso do uso do CB em diversas culturas. Simonato et al. (2014) relatam o controle da broca-da-cana (*Diatraea saccharalis*) por meio do parasitoide larval *Cotesia flavipes* e o parasitoide de ovos *Trichogramma galloi*. Bueno et al. (2022) apontam os parasitoides de ovos registrados para comercialização como biodefensivos na agricultura, registrado pelo MAPA nesse ano. Entre eles, o parasitoide *Telenomus podisi* que se utiliza como hospedeiro, o percevejo *Euschistus heros* e o parasitoide *Trissolcus basal* que se utilizada como hospedeiro, outra espécie de percevejo: *Nezara viridula* (BUENO et al., 2022).

Insetos predadores são organismos de vida livre durante todo o seu ciclo vital. Geralmente os predadores são maiores que as suas presas e se alimentam de mais de uma presa para concluir seu desenvolvimento (SIMONATO et al., 2014). Em síntese, a predação pode ser estabelecida como a interação entre dois organismos, em que um deles (o predador) se alimenta do outro (presa). Considerando o panorama de acúmulo energético e de biomassa, essa interação ocasiona vantagem para o predador e consequente prejuízo para a presa (SUJII et al., 2020).

No entanto, em um conceito mais abrangente de predação, interações tais como herbivoria, parasitismo e parasitoidismo podem ser classificadas como formas específicas de predação, isso é, todos os organismos que capturam, matam e se alimenta de diversas espécies de presa ao longo do ciclo vital são predadores (SUJII et al., 2020). Ainda de acordo com os mesmos autores, o canibalismo também é uma forma específica de predação, em que o organismo de uma mesma espécie preda indivíduos jovens ou vulneráveis da mesma espécie de forma geralmente oportunista e eventual (Figura 6).

Figura 6 - Exemplos Insetos predadores e suas presas.



Fonte: Adaptado de Sujji et al., 2020.

Charles Darwin e outros entomologistas do século XIX relatam organismos predadores e também recomendaram a utilização de Coccinellidae e Syrphidae para o controle de *Sternorrhyncha* em cultivos conduzidos em campo e casas de vegetação (HÖRSTADIUS, 1974; SUJII et al., 2020). Logo, se infere que os agentes predadores, desde a antiguidade são comumente utilizados no Controle Biológico.

Dentre os insetos predadores utilizados atualmente nos programas de CB na agricultura brasileira, destacam-se na cultura de café, formigas, vespas, joaninhas e tripes que são predadores das pragas: bicho-mineiro (*Leucoptera coffeella*) e broca-do-café (*Hypothenemus hampei*) (REZENDE et al., 2014). No cultivo de pimenta, pulgões (*Myzus persicae*) são predados por aranhas, crisopídeos e joaninhas (AMARAL et al., 2013).

### ***Microbiológicos (bactérias, vírus, nematoides e fungos)***

#### ***Bactérias entomopatogênicas***

As bactérias entomopatogênicas são agrupadas em dois grupos: esporulantes e não esporulantes. O primeiro grupo subdivide em bactérias aeróbicas e Gram-positivas frequentemente utilizadas no CB, e pertencem ao gênero *Bacillus* e similares *B. cereus*, *B. thuringiensis* (Bt), *Paenibacillus popilliae*, *P. lentimorbus*, *P. larvae*, *P. alvei*, *Brevibacillus laterosporus* e *Lysinibacillus sphaericus*. Já o segundo grupo é composto por bactérias anaeróbicas e Gram-positivas, que pertencem ao gênero *Clostridium*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Streptococcus* e *Xenorhabdus* (FONTES et al., 2020; THAKUR et al., 2020).

As toxinas produzidas por bactérias entomopatogênicas ocasionam o rompimento da barreira epitelial do intestino e invadem a hemocele do hospedeiro, com isso a multiplicação celular continua até o óbito do organismo (FONTES et al., 2020).

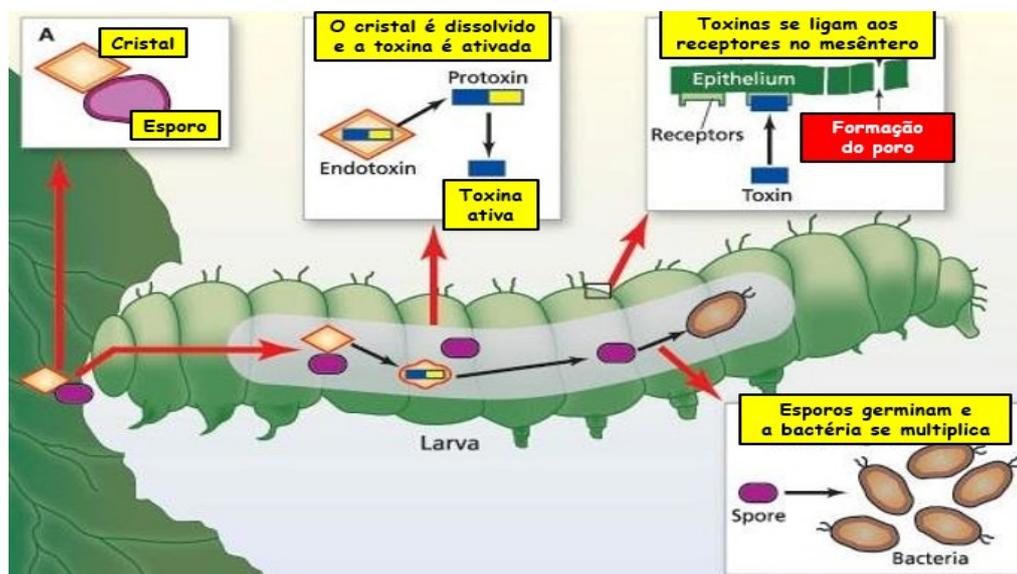
A bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* (Bt) é um dos principais agentes microbiológicos comercializados no Brasil e em diversos países. A ação inseticida está relacionada a presença das deltas endotoxinas produzidas na esporulação e não são patológicas ao meio ambiente, ser humano e outros vertebrados (MONNERAT et al., 2018).

Estudos recentes revelam que após a infecção do hospedeiro, a bactéria *Bacillus thuringiensis* libera endotoxinas com ação inseticida (Figura 7), tais como as  $\delta$ -endotoxinas,  $\alpha$ -exotoxina,  $\beta$ -exotoxina, VIP e SIP. Resumidamente, as toxinas são: proteína Cyt (comumente tóxica para insetos da ordem Diptera), e as proteínas Cry, tóxica a nematoides e espécies das

ordens Lepidoptera, Coleoptera, Hymenoptera e Diptera (PALMA et al., 2014; FONTES et al., 2020; THAKUR et al., 2020).

Além disso, quatro famílias de proteínas Vip: Vip1, Vip2 são virulentas contra diversas espécies de Hemiptera e Coleoptera, e Vip3 apresenta semelhanças com as proteínas Cry e acomete pragas da ordem Lepidoptera. Já o espectro de insetos controlados pela toxina Vip4 ainda é desconhecido (PALMA et al., 2014; VERMA et al., 2017; THAKUR et al., 2020).

Figura 7 - Modo de ação das toxinas Bt em lagartas.



Fonte: Daquila, 2019.

Consideráveis biospeticidas formulados a partir de bactérias entomopatogênicas são citadas pelos autores Mashtoly et al. (2010), Mashtoly et al. (2011), Jurat-Fuentes e Jackson (2012) e Koppenhöfer et al. (2012). Dentre as espécies mais utilizadas, pode-se citar *Bacillus thuringiensis* subespécie *japonensis*, *Bacillus thuringiensis* subespécie *aizawaia*, *Bacillus thuringiensis* subespécie *kurstakia* e *Paenibacillus popilliae* respectivamente.

### ***Vírus entomopatogênicos***

Os vírus entomopatogênicos são relatados desde a segunda metade do século XIX (CHRISTIAN e POSSEE, 2008). No entanto, estudos detalhados sobre esse patógeno só foram possíveis com a evolução da Biologia Molecular e das técnicas de microscopia, um século depois (BERGOLD, 1947; ROHRMANN e BEAUDREAU, 1977; ROHRMANN et al., 1978).

Os vírus entomopatogênicos atacam os insetos alvo por via oral ao se alimentarem. As partículas virais adentram o corpo do hospedeiro, atingem o intestino e entra em contato com as células do inseto e imediatamente o poliedro é dissolvido e os vírions são liberados (CASTRO et al., 2020).

Além disso, os vírus entomopatogênicos podem ser classificados como vírus de inclusão (vírus poliedro e vírus da granulose) e vírus de não inclusão (MURTHY et al., 2015). Em estudo realizado por Gupta e Dikshit (2010), relatou-se que os vírus de poliedro e granulose controlam a população de algumas espécies de lagartas. Já os vírus de poliedrose nuclear (presença de núcleo) são comumente utilizados pra insetos da ordem Lepidoptera (THAKUR et al., 2020).

Em relação aos outros organismos micropatógenos, os vírus são bastante específicos. Atualmente, os vírus da família Baculoviridae são os mais utilizados no controle de pragas agrícolas ao redor do mundo (MEYER et al., 2020). Segundo Castro et al. (2020), no Brasil, há vários programas de CB que utilizam espécies de baculovírus para formulação de biopesticidas, tais como lagarta-mandarová-da-mandioca - *Erinnyis ello granulovius* (ErelGV) (Figura 8) e lagarta-do-cartucho-do-milho - *Spodoptera frugiperda nucleopolyhedrovirus* (SfMNPV).

Figura 8- (A) Lagarta de *Erinnyis ello* (Lepidoptera: Sphingidae). (B) Lagarta de *Erinnyis ello* morta com sintomas característicos de infecção por *Baculovirus erinnyis*.



Fonte: Adaptado de Santo et al., 2021.

### ***Nematoides entomopatogênicos***

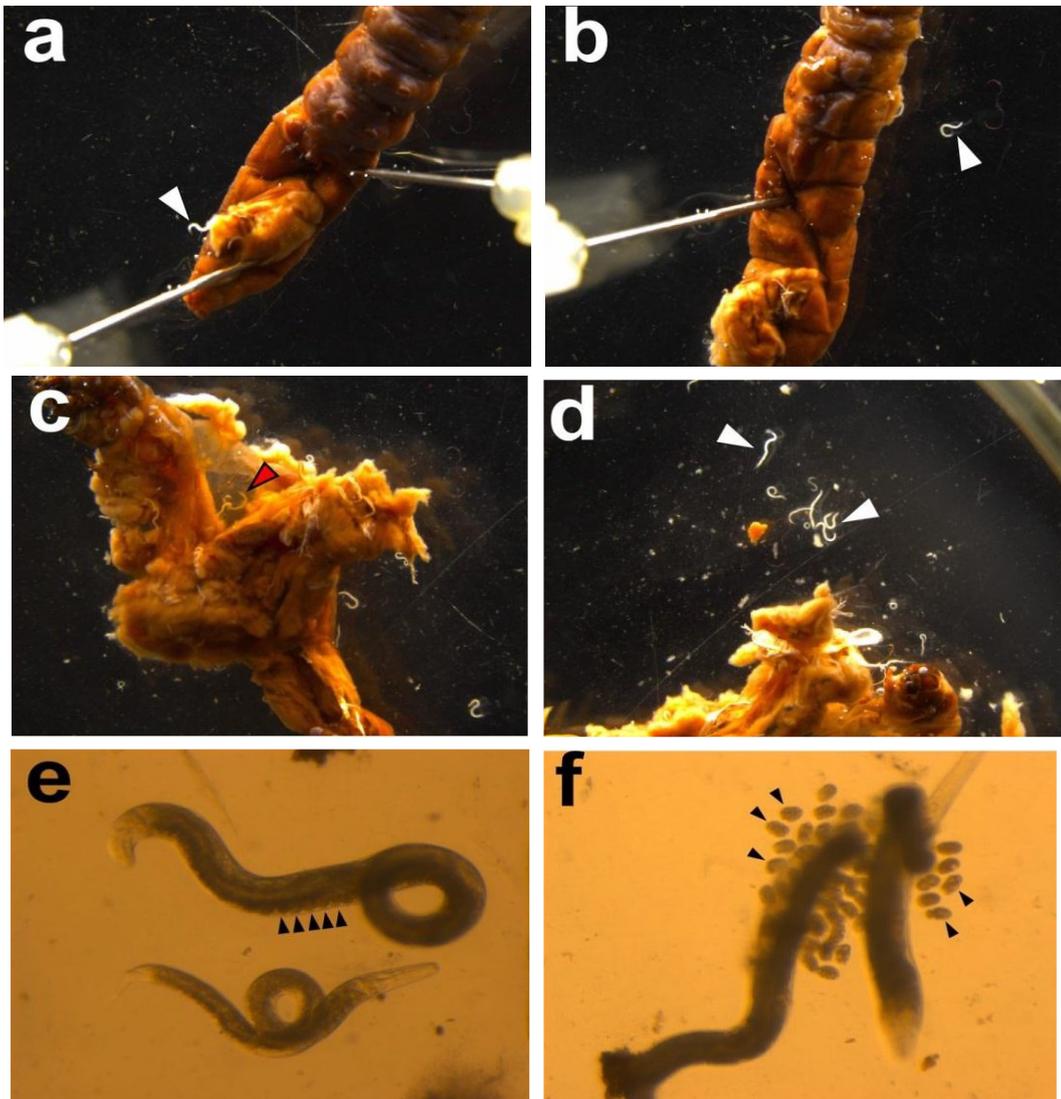
Nematoides entomopatogênicos são microrganismos benéficos, comumente utilizados no CB de artrópodes ectoparasitas, insetos vetores e insetos pragas no Brasil e no mundo. Eles causam doenças e a morte de insetos e outras espécies hospedeiras (DOLINSKI, 2020). Ainda

de acordo com a mesma autora, os nematoides são organismos com alto potencial de controle de pragas, pois estão sendo isolados de solos de diversos ecossistemas, do ártico ao trópico.

Os nematoides entomopatogênicos pertencem à ordem Rhabditida e compreende as famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae (Figura 9). A família Steinernematidae possui dois gêneros *Steinernema* e *Neosteinernema*, esses agem como bioinseticida nos estágios larvais de vários insetos. Já a família Heterorhabditidae é composta pelo gênero *Heterorhabditis* (DOLINSKI, 2020).

Figura 9 - Abertura de um cadáver de *Galleria mellonella* infectado.

A figura mostra a retirada de adultos hermafroditas de *Heterorhabditis baujardi* LPP7. (a), (b), (c) e (d) retirada dos adultos; (e) adultos de *H. baujardi* LPP7 com e sem ovos; (f) adultos abertos para mostrar os ovos em diferentes estágios do desenvolvimento embrionário.



Fonte: Adaptado de Almenara et al., 2012.

Estes nematoides entomopatogênicos vivem em associação simbiótica com os gêneros de bactérias patogênicas *Xenorhabdus* e *Photorhabdus* (THAKUR et al., 2020). Essas espécies de bactérias são Gram-negativas, móveis, produzem toxinas que ocasionam a morte do inseto e antibióticos que impossibilitam o crescimento de outros microrganismos oportunistas (DOLINSKI, 2020).

Na maioria dos casos, os nematoides entomopatogênicos adentram ao corpo do hospedeiro por meio da boca, ânus e espiráculos; em seguida, as bactérias simbióticas produzem inúmeras toxinas dentro da hemocele do inseto ocasionando fraqueza no hospedeiro. Além disso, as bactérias secretam metabólitos com a finalidade de criar um ambiente apropriado para a reprodução do nematoide (POINAR et al., 1990; THAKUR et al., 2020).

No Brasil, inúmeros estudos evidenciam o potencial do CB realizado por nematoides entomopatogênicos em diversas culturas, tais como goiaba (*Psidium guajava*), banana (*Musa* spp.), cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) e café (*Coffea* spp.) (DOLINSKI, 2020).

### ***Fungos entomopatogênicos***

Os fungos entomopatogênicos são os mais utilizados em programas de CB em todo mundo, e se destacam no percentual de produtos disponível por ativo biológico para comercialização (CROPLIFE 2020). As espécies entomopatogênicas são de ambiente terrestre e aquático e são imensamente importantes no Manejo Integrado de Pragas (MIP). Além disso, são microrganismos que vivem em diferentes associações com insetos (parasitismo, comensalismo e simbiose) de natureza obrigatória ou facultativa (RANA et al., 2019, 2020; THAKUR et al., 2020).

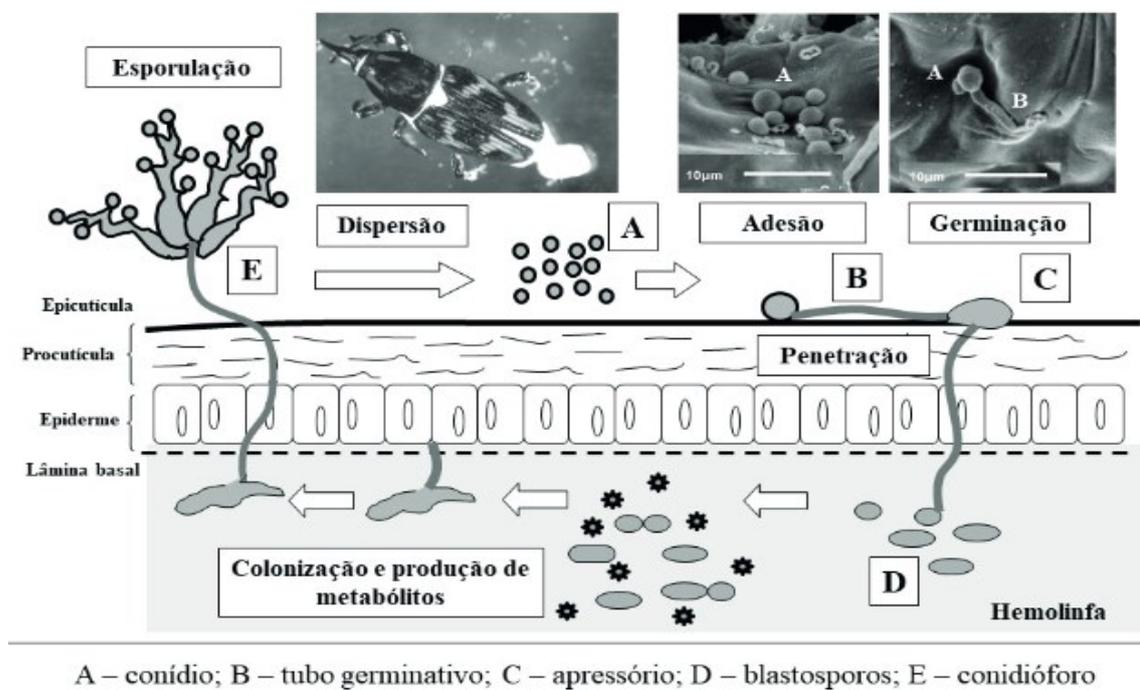
Esses fungos não atacam plantas, contudo, o estudo realizado por Nourrisson et al. (2017) demonstrou preocupação com o uso de fungos para o CB, uma vez que eles possuem alta capacidade de produzir toxinas que possam desencadear patogenicidades em espécies de mamíferos ou outros vertebrados que não são alvo biológico. Oosporina, Efraeptinas, Destruixinas e outros peptídeos tóxicos são metabolitos produzidos pelos fungos *Metarhizium anisopliae*, *Tolypocladium* spp., *Beauveria brongniartii* e *Beauveria bassiana* (VALADARES et al., 2020).

De maneira oposta ao que ocorre com outros microrganismos, ou seja, necessitam ser ingeridos para ocasionar a infecção no hospedeiro, os fungos entomopatogênicos contagiam

seus alvos via tegumento (VALADARES et al., 2020). Espécies de insetos sugadores (tripes, pulgões, mosquitos, cochilhas, ácaros e moscas brancas) são altamente afetados e mortos pelo uso de fungos entomopatogênicos (BARBARA e CLEWES, 2003; THAKUR et al., 2020).

Em síntese, o processo é realizado por quatro etapas (Figura 10), sendo elas: 1) adesão de estruturas fúngicas a superfície do hospedeiro suscetível, 2) germinação, 3) penetração e 4) colonização interna (VALADARES et al., 2020).

Figura 10 - Etapas do processo patógeno-hospedeiro. Adesão e germinação (A); penetração (B); colonização (C); reprodução (D); e disseminação (E).



Fonte: Faria et al., 2022.

Na conjuntura atual, em grande maioria os micoinseticidas são derivados de quatro classes principais de fungos: Sordariomycetes, Hyphomycetes, Zygomycetes e Laboulbeniales (THAKUR et al., 2020). No Brasil, os principais biológicos formulados a partir de fungos entomopatogênicos são: *Isaria fumorosea*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces lilacinus*, *Pochonia chlamydosporia*, *Trichoderma asperellum*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningiopsis*, *Trichoderma stromaticum*, *Hirsutella thompsonii*, *Aspergillus flavus* e *Beauveria bassina* (AGROFIT, 2022).

### ***O fungo entomopatogênico Beauveria bassiana***

A espécie de fungo entomopatogênicos *Beauveria bassiana* foi descrita pela primeira vez por volta de 1800 como patógeno do bicho-da-seda, por meio de experimentos realizados por Agostino Bassi (IMOULAN et al., 2017). Posteriormente, Balsamo (1835) confirmou os estudos de Bassi, ao verificar que exemplares mortos de bicho-da-seda, apresentavam incrustação e eflorescência branca, características de fungos entomopatogênicos do gênero *Botrytis* (BUSTAMANTE et al., 2019).

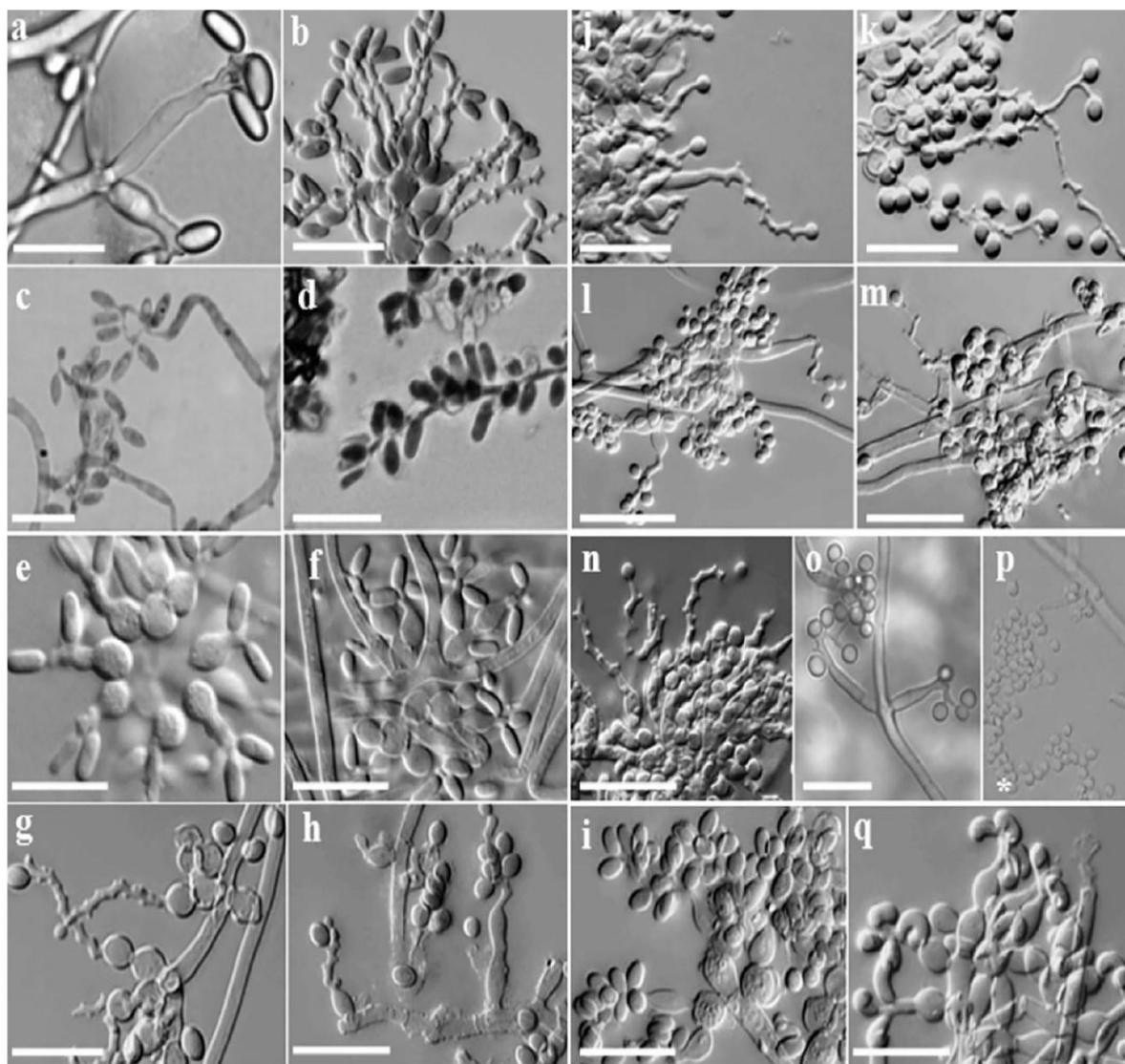
Balsamo (1835), inicialmente nomeou a espécie do fungo entomopatogênico de *Botrytis paradoxa alsamo*, e logo depois alterou a nomenclatura para *Botrytis bassiana* (Balsamo). Anos depois, essa espécie foi alocada em seu próprio gênero: *Beauveria vuillemin*, como espécie tipo Vuillemin, 1912 (BUSTAMANTE et al., 2019).

Desde a descrição de *B.bassiana* por Vuillemin (1912), as cepas de *B. bassiana* foram mundialmente isoladas de cadáveres de insetos e do solo, incluindo inúmeros métodos seletivos que foram se aperfeiçoando de acordo com os avanços das pesquisas técnicos-científicas. No entanto, ainda existem controversas de quantas espécies, de fato, já foram descritas (BUSTAMANTE et al., 2019).

De acordo com Imoulan et al. (2017), o método de delineamento experimental realizado com base na análise multigênica, por meio da observação das formas dos esporos e conídios contribuíram para catalogar dezessete espécies, classificando-as em quatro grupos principais. A caracterização morfológica do primeiro grupo está relacionada com a produção de elipsoidais alongados a conídios cilíndricos, constituído por seis espécies (Figura 11 /A-F): *B. amorpha*, *B. caledonica*, *B. malawiensis*, *B. lii*, *B. sinensis* e *B. hoplocheli*. O segundo grupo possui três espécies: *B. brongniartii*, *B. asiatica* e *B.sungii*, que são caracterizadas por conídios elipsoidais (Figura 11/ G-I). O terceiro apresenta espécies produtoras de conídios globosos a subglobosos: *B. basiana*, *B.austalis*, *B.kipukae*, *B.pseudobassiana*, *B. varroae*, *B. rudraprayagi* e *B. medogenis* (Figura 11/ J-P).E o último grupo, apresenta uma única espécie que possuiu características distintas das outras, *B.vermiconia* (Figura 11/ Q), produz conídios em forma de virgula (IMOULAN et al., 2017).

Figura 11 - Forma dos conídios das dezessete espécies de *Beauveria* sp.

(A–F): *B. lii*; *B. Amorfa*; *B. sinensis*; *B. hoplocheli*; *B. malawiensis*; e *B. caledônica*); (G–I:) *B. asiática*; *B. sungii*; e *B. brongniartii*; (J–P:) *B. australis*; *B. bassiana*; *B. kipukae*; *B. varroae*; *B. pseudobassiana*; *B. medogênese* e *B. rudraprayagi*); (Q): *B. vermiconia*.



Fonte: Adaptado de Imoulan et al., 2017.

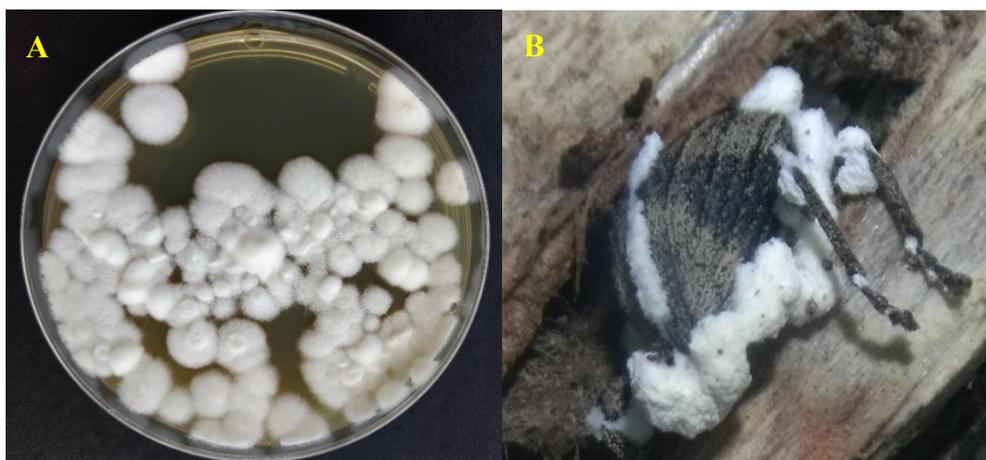
Haja vista, as novas técnicas moleculares de sequenciamento genético, utilizadas atualmente nas pesquisas técnico-científicas, contribuíram para que essas novas espécies fossem identificadas. O banco de dados da National Library of Medicine (NIH), reporta 25 linhagens do fungo (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/browse/#!/eukaryotes/910/>). Em contrapartida, o MycoBank Database apresenta 23 linhagens descritas para o fungo *B. bassiana* (<https://www.mycobank.org/page/Name%20details%20page/name/Beauveria%20bassiana>).

Essa discrepância entre as espécies de *B. bassiana* encontrada entre os bancos de dados, está relacionada com a dificuldade de identificação do fungo, especialmente em estado de conidiogênese, devido a simplicidade estrutural e falta de variação fenotípica distinta. Assim, a análise da dados moleculares está se tornando padrão para reconhecimento desses fungos, por meio de sequência de multilocus, a fim, de evitar enganos na compreensão da história evolutiva do gênero *B. bassiana* (BUSTAMANTE et al., 2019).

Tendo em vista todos os estudos taxonômicos do gênero *B. bassiana*, até o presente momento, de acordo com National Center for Biotechnology Information (NCBI), a linhagem atual e completa do fungo é a seguinte: cellular organisms; Eukaryota; Opisthokonta; Fungi; Dikarya; Ascomycota; saccharomyceta; Pezizomycotina; leotiomyceta; sordariomyceta; Sordariomycetes; Hypocreomycetidae; Hypocreales; Cordycipitacea; *Beuvaria* (NCBI, 2022).

Considerando os aspectos morfológicos gerais do gênero, *B. bassiana* é um fungo filamentosos, eucarionte e com presença de células quitinizadas. Quando cultivado em laboratório, apresenta crescimento satisfatório nos meios de cultura Sabourand-dextrose-ágar (SDA), batata-dextro-se-ágar (BDA) e outros. Por meio de observações macroscópicas de *B. bassiana* (Figura 12), as colônias inicialmente apresentam uma coloração esbranquiçada, e a superfície possui aparência velosa e moderadamente acolchoada (RODRIGUES et al., 2016).

Figura 12 - Colônia do fungo entomopatogênico *B. bassiana* (Vuill.) (A); e *Sternocoelus* sp. infectado pelo *B. bassiana* sp. (B).

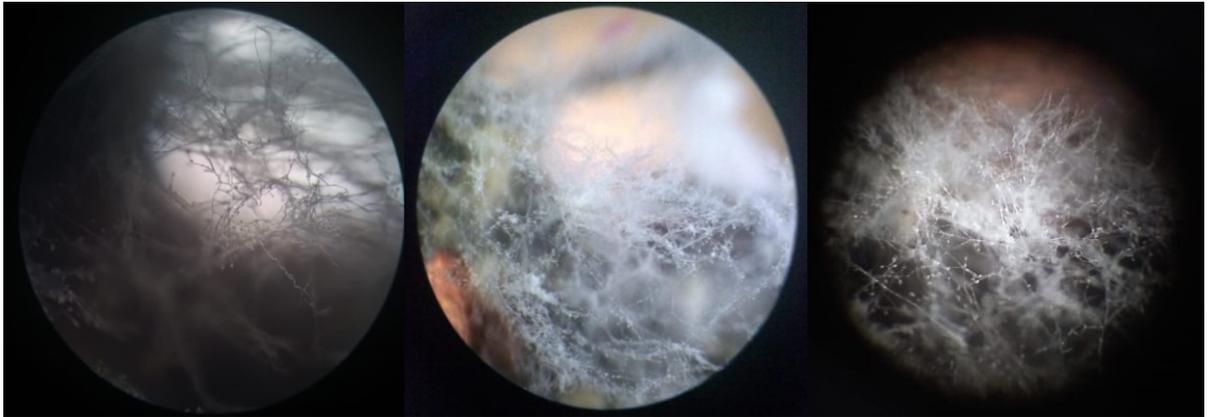


Fonte: Lima, 2017.

Microscopicamente, o *B. bassiana* é um fungo filamentosos, os esporos assexuados são conídios de coloração inicial branca, podendo chegar ao branco-amarelado, com filamentos

septais e sinuosidades transparentes, o diâmetro das hifas variam entre 2,5 e 25  $\mu\text{m}$  (Figura 13) (DANNON et al., 2020).

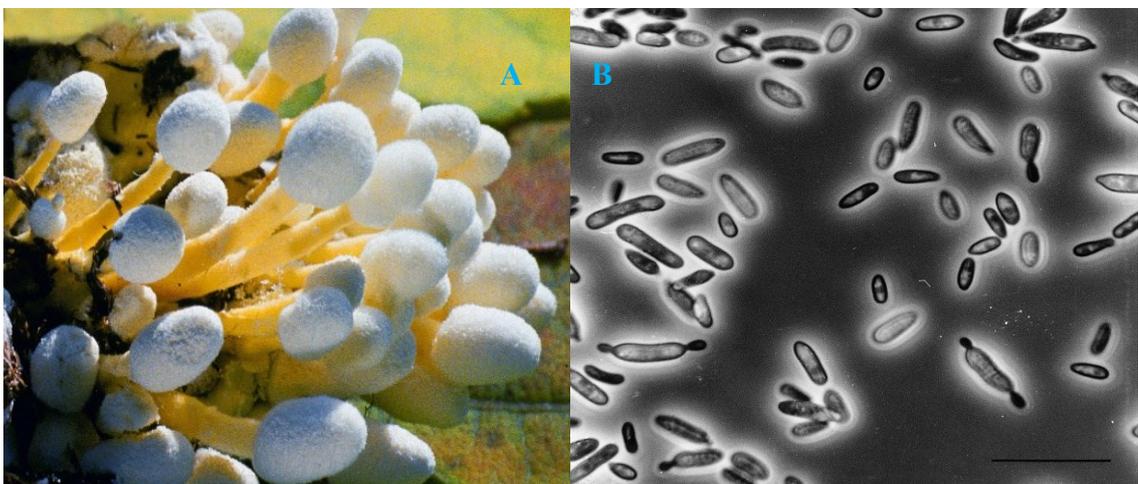
Figura 13 - Esporos e conídios da infecção por *B.bassiana* em formigas de *Atta* spp., linhagem ESALQ PL63 produzido pela empresa Koppert Ltda., com o nome comercial Boveril®, utilizado nos bioensaios dessa pesquisa.



Fonte: A autora, 2018.

Os conídios e blástosporos (órgãos assexuados infecciosos) do *B. bassiana*, apresentam estruturas diferentes, essa variação está relacionada ao ambiente em que o fungo está alocado (Figura 14). Em ambiente aeróbico, o fungo produz conídios ovais ou esféricos que variam entre (1,55 – 5,5  $\mu\text{m}$  x 1,3  $\mu\text{m}$  de tamanho) e (1-4  $\mu\text{m}$  de diâmetro), respectivamente. Em condições anaeróbicas, o fungo produz blástosporos de forma oval com medidas em torno de (2-3  $\mu\text{m}$  de diâmetro e 7  $\mu\text{m}$  de comprimento) (DANNON et al., 2020).

Figura 14 - Crescimento do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*: (A) condições aeróbicas e condições anaeróbicas (B).



Fonte: Agropages, 2022.

Os autores Mascarin e Jaronski (2016), estabeleceram recentemente como o *B. bassiana* ocasiona infecções nos hospedeiros. Os órgãos assexuados infecciosos do fungo (conídios e blástoporos) espalham-se por gotas de chuva, ação dos ventos e também por vetores artrópodes. Resumidamente a ação do fungo no hospedeiro ocorre em quatro estágios: adesão, germinação e diferenciação, penetração e disseminação.

No estágio de adesão, os conídios e/ou blástoporos aderem-se a superfície da cutícula do hospedeiro por meio de forças eletrostáticas e químicas, iniciando a produção de mucilagem, que induz a conversão epicuticular, onde o produto final é a germinação dos conídios (WRAIGHT ROBERTS, 1987; DANNON et al., 2020).

A etapa da germinação se difere de acordo com as condições ambientais em que o fungo se aloca (aeróbicas ou anaeróbicas) e considera também a fisiologia do hospedeiro, ou seja, a composição bioquímica da cutícula do alvo biológico. Estas condições são cruciais pois podem estimular ou inibir a infecção pelo fungo. Em vias favoráveis, a germinação induz a prospecção dos tubos germinativos com estímulos químicos e reidratação, prosperando a virulência do entomopatogêno sob o hospedeiro (MASCARIN e JARONSKI, 2016; DANNON et al., 2020).

No entanto, a diferenciação se caracteriza pela formação de pinos de penetração e/ou apressórios de penetração, que asseguram o desenvolvimento e crescimento de hifas, capacitando-as para romper o tegumento do inseto e molificar a cutícula do hospedeiro alvo, e assim promover a penetração no hospedeiro (MASCARIN e JARONSKI, 2016; DANNON et al., 2020).

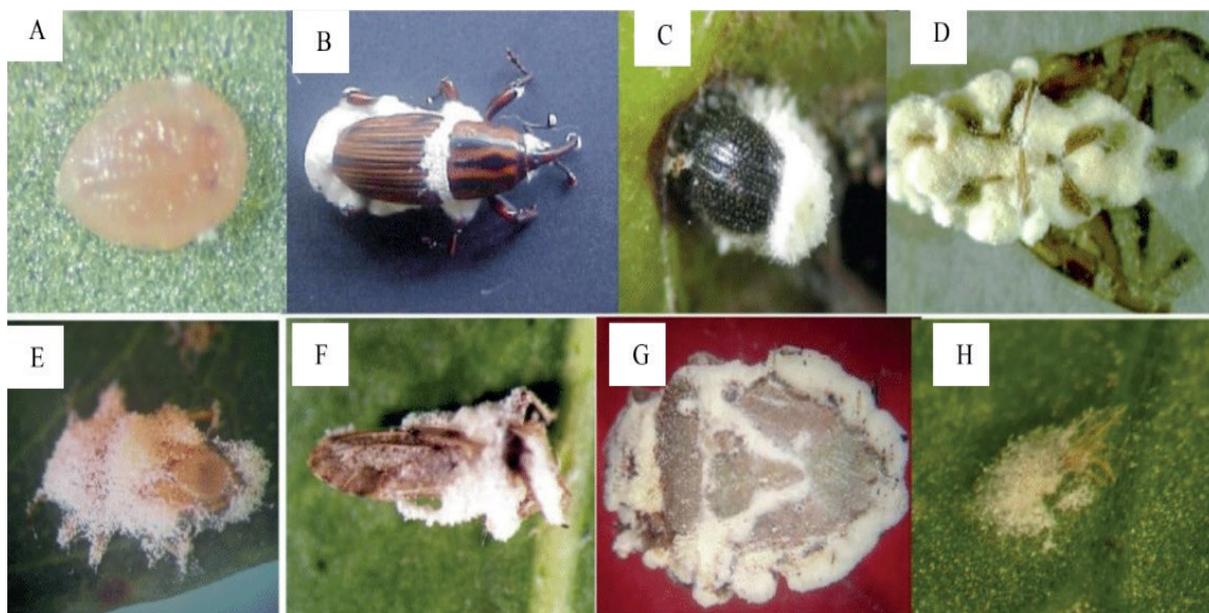
No estágio de penetração, os pinos e/ou apressórios auxiliam o fungo a penetrar em todas as camadas da cutícula do hospedeiro, até que atinja a hemolinfa do inseto por meio da pressão mecânica oxalato e da ação hidrolítica, ocasionada por enzimas lipases, proteases e quitinases. Nessa etapa, a migração do fungo se conduz de forma ágil para epiderme e hipoderme (DANNON et al., 2020).

O estágio de disseminação é a última etapa da infecção do *B. bassiana*. Ao atingir a hemolinfa (ambiente mais rico em nutrientes do hospedeiro), o fungo entomopatogênico tolera uma diferenciação no campo morfogenético. Conseqüentemente, nesse estágio o *B. bassiana* inicia o processo de secretar metabólicos tóxicos ao hospedeiro que contribuem para dominar a imunidade imunológica do inseto, e assim estabelecer uma colonização vitoriosa, que ocasiona desnutrição, danos físicos, e a morte do hospedeiro. Neste estágio, o fungo produz o antibiótico Oosporin que auxilia na aniquilação de bactérias benéficas do hospedeiro.

Subsequentemente, as hifas do *B. bassiana*, atravessam o tegumento do alvo biológico, causando aparência de algodão. E finalmente, os conidióforos se tornam perceptíveis nos cadáveres mumificados, encerrando o ciclo de infecção do fungo, que após alguns dias produzem novas esporulações de conídios para dispersão de novos ciclos (Figura 15) (DANNON et al., 2020).

Figura 15 - *B. bassiana* colonizando diversos hospedeiros:

**A-** Ninfã da mosca-branca (*Bemisia Tabaci*); **B-** *Metamasius hemipterus*; **C-** Broca-do-café (*Hyphotenemus hampei*); **D-** *Anastrepha Fraterculus*; **E-** *Tetranychus urticae*; **F-** Percevejo-da-soja (*Nezara viridula*); **G-** *Diaphorina citri*; **H-** *Thaumastocoris peregrinus*.



Fonte: Adaptado de Oliveira et al., 2020.

*B. bassiana* possui ocorrência generalizada em todos os países do mundo exceto em regiões polares. Sobrevive no solo como propágulos dormentes ou como micélio saprotófico, até aderir a um hospedeiro alvo compatível, associando-se a plantas como microrganismo endófito ou no ambiente circundante (BEHIE et al., 2015; IMOULAN et al., 2017).

Indivíduos do fungo *B. bassiana* já foram reportadas nos continentes da África, Ásia, Europa, América do Norte, Oceania e América do Sul. A Tabela 2, lista algumas referências de artigos publicados até o ano de 2020, considerando apenas os países e estados da América do Sul, onde o fungo *B. bassiana* foi reportado, e sua distribuição permanece até os dias atuais (CABI, 2020).

Tabela 2 - Países e estados da América do Sul, onde o fungo *B.bassiana* foi reportado.

País/ Estados	Distribuição	Referências
• Argentina	x	Fresa (1979)
• Bolívia	x	1. Pruett e Colque (1985)
• Brasil	x	2. Habib and Andrade (1977)
-Alagoas	x	3. CABI (2020)
-Amazonas	x	4. Lord et al., (1987)
-Bahia	x	5. CABI (2020)
-Ceara	x	6. Bleicher et al., (1994)
-Espírito Santo	x	7. Benassi (1995)
-Goiás	x	8. Fernandes e Alves (1991)
-Mato Grosso	x	9. CABI (2020)
-Mato Grosso do Sul	x	10. CABI (2020)
-Paraná	x	11. Hoffmann et al., (1979)
-Pernambuco	x	12. Marques et al., (1984)
-Rio Grande do Sul	x	13. Lorenzato e Corseuil (1982)
-Santa Catarina	x	14. Carneiro et al., (1994)
-São Paulo	x	15. CABI (2020)
• Chile	x	16. Lanfranco et al., (1994)
• Colômbia	x	17. Agudelo et al., (1977)
• Equador	x	18. CABI (2020)
• Peru	x	19. Alcalá et al., (1976)
• Uruguai	x	20. Hudson et al., (1988)

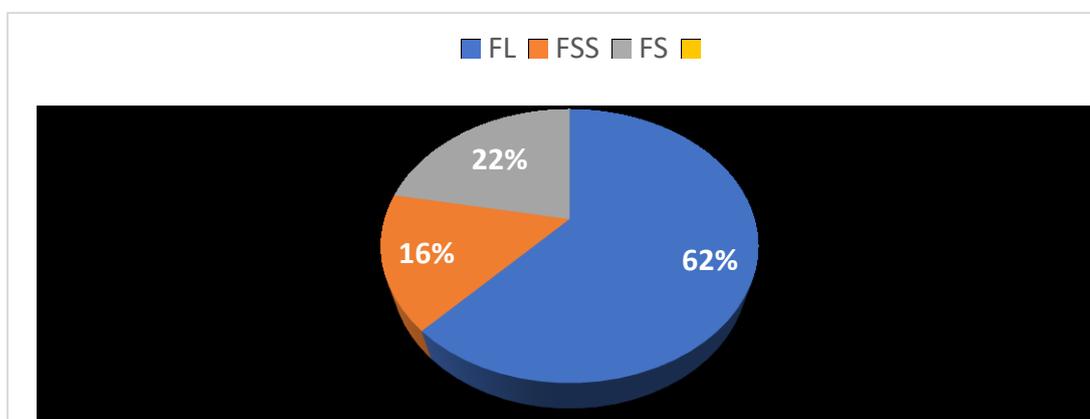
Fonte: Adaptado de CABI, 2020.

Segundo Oliveira et al. (2020), presentemente, a produção de *B.bassiana* está sendo realizada por via do micélio seco do fungo, por meio de fermentação em meio líquido (FL-

62%), semissólido (FSS-16%) ou sólido (FS-22%), os substratos comumente utilizados são bagaço de cana-de-açúcar, farelo de arroz, arroz parabolizado e milho triturado (OLIVEIRA et al., 2020). A (Figura 16), ilustra que os autores Kleespies e Zimmermann (1992), demonstraram que a fermentação para fungos entomopatogênicos em grande escala, apresentaria maiores rentabilidades de produção em meio líquido. Com isto, esse método de produção é o mais estudado nos últimos anos (OLIVEIRA et al., 2020).

Figura 16 - Cenário das formas de produção de *Beauveria* spp., nos últimos 10 anos.

Pesquisa realizada em artigos publicados em revistas científicas internacionais nos anos de 2008 a 2018, totalizando 33 artigos avaliados. **FL** (Fermentação em meio líquido); **FSS** (Fermentação em meio semissólido); **FS** (Fermentação em meio sólido).



Fonte: Adaptado de Oliveira et al., 2020.

As espécies *B. bassiana* são patógenos de inúmeras ordens de insetos-pragas, afetando mais de 700 espécies em diversas ordens da classe Insecta, entre elas: Coleoptera, Lepidoptera, Hemiptera, Diptera, Orthoptera e Hymenoptera. Além disso, o fungo é capaz de atacar os hospedeiros em todas as fases de desenvolvimento: ovos, ninfas, larvas, pupas e adultos (CABI, 2020).

Os autores Selvasundaram e Muraleedharan (2000); Rodríguez Palomera et al. (2012), Alves et al. (2012), Beris et al. (2013), Tamayo Mejía et al. (2014) e Akutse et al. (2019) comprovaram em seus estudos que o *B. bassiana* é inimigo natural de adultos de *Euwallacea perbrevis*, adultos e ninfas de *Dialeurodes citri*, adultos de *Vatiga manihotae*, adultos e pupas de *Ceratitis capitata*, artrópodes e ninfas de *Bactericera cockerelli*, ovos e larvas de *Spodoptera frugiperda*, respectivamente.

A vasta gama de hospedeiro de *B. bassiana* inclui pragas florestais e agrícolas de grande importância econômica (IMOULAN et al., 2017). Com isso, o *B. bassiana*, ocupa o rank dos principais entomopatogênicos utilizados como fonte de inseticidas e acaricidas fúngicos do século XIX e XX (SANTO MERGULHÃO et al., 2014; ZHOU et al., 2021). Atualmente, o comércio mundial produz e consome inúmeros biopesticidas formulados a partir do *B. bassiana*, embora, ainda não seja um número expressivo em relação ao uso indiscriminado de PAP e PPA.

No Brasil, as formulações do fungo, é utilizado como alvo biológico para broca-do-café (*Hypothenemus hampei*), broca-da-bananeira (*Cosmopolites sordidus*), broca-gigante-da-cana-de-açúcar (*Castnia licus*), Ácaros: *Tetranychus urticae*, *Brevipalpus phoenicis*, Ácaro-verde-da-mandioca (*Mononychelus tanajoa*), Gorgulho-aquático-do-arroz (*Oryzophagus oryzae*), Gorgulho-da-cana-de-açúcar (*Sphenophorus levis*) e Cascudinho (*Alphitobius diaperinus*) (UNIFEQB, 2020).

### ***Família Formicidae***

Estudos paleontólogos estimam que a origem das formigas remota ao Cretáceo, no entanto, a diversificação das linhagens atuais data aproximadamente 65,5 milhões de anos, e seguem em ininterrupta evolução (BOLTON, 2022; BARDEN, 2017). Com isso, as formigas se tornaram o grupo taxonômico com maior número de espécies conhecidas e diversidade ecológica, habitando e dominando um amplo espectro de ecossistemas terrestres (PREBUS, 2017).

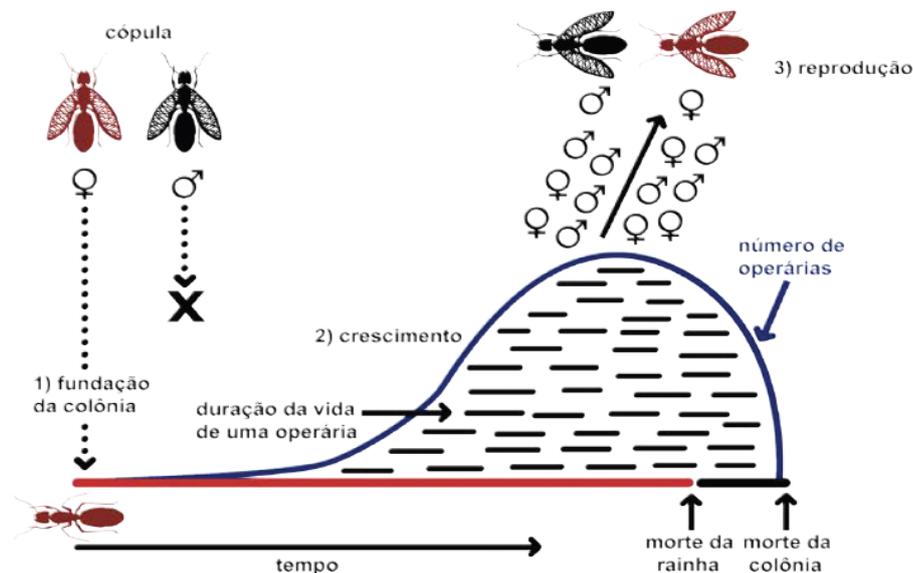
As formigas pertencem a ordem Hymenoptera e constituem a família Formicidae (HÖLLDOBLER; WILSON, 1990). De acordo com catálogo taxonômico de formigas, Bolton (2022), Formicidae possuiu 501 gêneros, subdivido em 22 subfamílias e soma 16.578 espécies e subespécies. Ainda assim, é evidente que há muitas espécies a serem descobertas e descritas.

Assim como cupins, algumas vespas e abelhas, todas as espécies de formigas são insetos eusociais, ou seja, apresentam três atributos que exprimem esse comportamento: 1) distribuição de tarefas, os indivíduos estéreis executam diversos trabalhos para beneficiar os indivíduos férteis, 2) todos os indivíduos atuam em equipe para assegurar o desenvolvimento dos indivíduos mais jovens, e 3) na colônia comumente ocorre a sobreposição de duas ou mais gerações, desse modo, os indivíduos jovens trabalham junto dos mais velhos (BACCARO et al., 2015).

Dado o exposto, uma colônia de formigas é constituída por diferentes tipos de indivíduos adultos, que juntos constituem uma casta. Assim sendo, cada casta é formada por um conjunto de indivíduos que apresentam o mesmo tipo morfológico, faixa etária e estado fisiológico para realizar tarefas específicas na colônia (BORROR e DELONG, 1988; SILVA e LOECK, 2006; BAIOTTO et al., 2015).

Ainda de acordo com os mesmos autores, castas de um formigueiro são compostas pelas rainhas (fêmeas férteis), essas desempenham a função de liderar a colônia e pôr ovos férteis, viabilizando a perpetuação do ninho. As operárias (fêmeas estéreis ápteras), realizam tarefas dentro e fora do ninho, entre elas cuidar das larvas e forragear, respectivamente. Os soldados que também são fêmeas estéreis ápteras, protegem e defendem as entradas da colônia contra possíveis predadores e outras espécies de formigas. E os machos alados são responsáveis pela reprodução (Figura 17). Logo após o voo nupcial, os machos são expulsos da colônia de origem e conseqüentemente sobrevivem por pouco tempo no ambiente após acasalar.

Figura 17 - Representação esquemática do ciclo de vida de uma colônia de formigas.



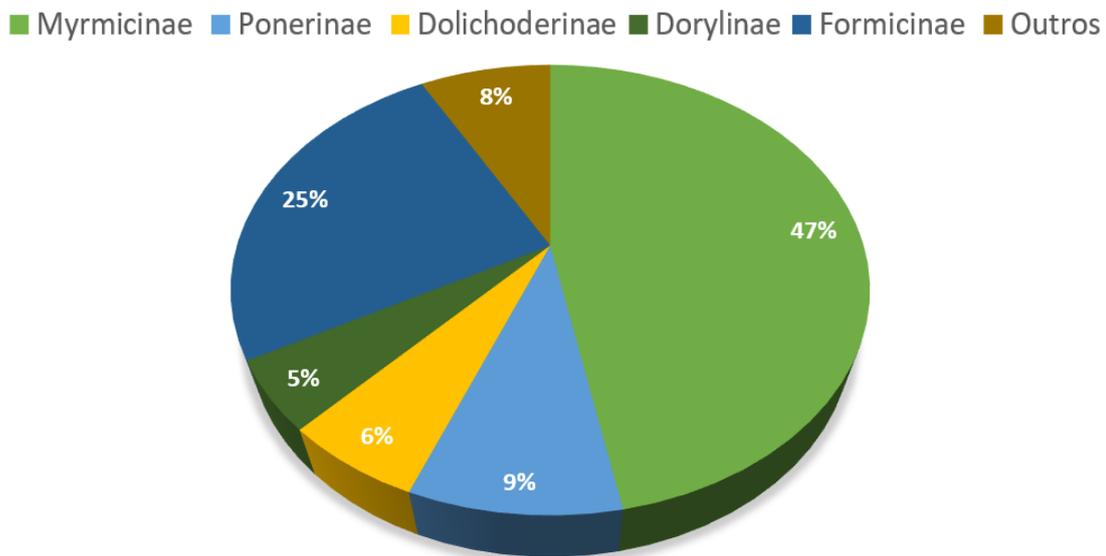
Fonte: Baccaro et al., 2015.

Os hábitos alimentares da família Formicidae se diferenciam de conforme as espécies, algumas são carnívoras como as da subfamília Ponerinae, outras se alimentam de fungos, seiva ou néctar de flores, dieta comum da subfamília Myrmicinae, e outras espécies se alimentam da excreção de outros indivíduos (trofalixia) processo no qual um indivíduo transfere à outro, o

alimento por regurgitação, além de substâncias açucaradas, insetos mortos ou carne de cadáveres (BORROR e DELONG,1988).

Estatísticas publicadas pela AntWeb (2022) classificam a família Formicidae em cinco subfamílias principais, como mostra a Figura 18. Em suma, Formicinae compreende espécies insetívoras, doceiras e caseiras e realizam simbiose com cochonilhas e pulgões; Ponerinae são predadoras e as operárias forrageiam individualmente; Dolichoderinae ocasionam danos em culturas agrícolas e outras são pragas urbanas e em geral são onívoras; Dorylinae apresentam operárias com tamanhos variados e a rainha não possui asas, além disso, são carnívoras; e Myrmicinae soma espécies onívoras e desfolhadoras (BAIOTTO et al., 2015).

Figura 18 - Principais subfamílias de Formicidae.



Fonte: Adaptado de AntWeb, 2022.

Conforme os autores Kistner (1982); Holldobler e Wilson (1990); Jolivet et al. (1996), Schultz e McGlynn (2000) e Mueller et al. (2004), as interações realizadas pelas formigas nos ecossistemas, resultaram na evolução de inúmeros ou organismos em grau singular. Os trabalhos desses autores, apontaram que as formigas participam de simbioses obrigatórias e facultativas, em milhares de espécies de artrópodes, várias espécies de plantas distribuídas em torno de 52 famílias, e o número de fungos e microrganismos ainda é inestimável (AntWeb, 2022).

Dado o exposto, as formigas são imprescindíveis na ecologia dos sistemas terrestres. A literatura científica elucida que a família Formicidae é o maior grupo de predadores de

invertebrados, são condutores de energia e material orgânico, realizam a fertilização e recuperação dos solos. Além disso, as espécies da subfamília Myrmicinae são as principais pragas de culturas da região Neotropical (AntWeb, 2022), desfolhando vegetais para levarem ao formigueiro e alimentar fungos. Formigas da subfamília Myrmicinae são micófagas, ou seja, se alimentam de fungos que cultivam no interior dos formigueiros.

### ***Subfamília Myrmicinae***

De acordo com Bolton, (2022), Myrmicinae possui seis tribos, 147 gêneros e cerca de 7.076 espécies viventes. Habitam oito regiões biogeográficas da Terra, sendo elas: Oceania Afrotropical, Australásia, Indomalaya, Malgaxe, Neártica, Neotropical e Paleártica. Assim sendo, Myrmicinae constitui a maior subfamília da família Formicidae. Consequentemente os hábitos alimentares são diversos; onívoras generalistas, predadoras, granívoras ou produtoras de fungos (AntWeb, 2022).

Assim sendo, na história evolutiva, as formigas desenvolveram a capacidade de cultivar seu próprio alimento. Espécies que cultivam fungos para a sua alimentação pertencem a tribo Attini e engloba dois gêneros principais *Atta* e *Acromyrmex*, popularmente designadas como formigas cortadeiras (SANTOS e CAZETTA, 2016).

Segundo Ajnos et al. (1998), elas são a principal praga do reflorestamento brasileiro e outras culturas ao redor do mundo. Do ponto de vista econômico, elas atacam demasiadamente cultivos em todas épocas do ano, e em qualquer fase do desenvolvimento da planta. Folhas, flores, brotos e ramos finos são comumente carregados para o interior dos seus ninhos, a fim de, alimentar os fungos simbiotes para assegurar a sobrevivência do formigueiro.

Morfologicamente, as formigas do gênero *Acromyrmex* têm o dorso do mesossoma com quatro a cinco pares de espinhos uniformes (lisos) e o gáster é microtuberculado (Figura 19), e as operárias são polimórficas. No território brasileiro, são encontradas em todos os estados, e popularmente são denominadas de “quenquéns” (BACCARO et al., 2015). Em conformidade com Bolton (2022), o gênero *Acromyrmex* soma 21 subespécies e 34 espécies. São nativas e distribuídas nas regiões biogeográficas da Neártica e Neotropical.

Figura 19 - Exemplar do gênero *Acromyrmex*.



Fonte: Baccaro et al., 2015.

A diagnose do gênero *Atta*, evidencia o dorso do mesossoma com três pares de espinhos, o primeiro tergo do gáster é liso e não apresenta tubérculos (Figura 20), e as operárias são extremamente polimórficas. Popularmente são chamadas de tanajuras, saúvas ou içás, e também estão presentes em todos os estados do Brasil. De acordo com Bolton (2022), esse gênero constitui um único subgênero distribuídas em 15 espécies. São relatadas nas regiões biogeográficas do Indomalaya, Neártica e Neotropical e são nativas Neártica e Neotropical.

Figura 20 - Exemplar do gênero *Atta*.



Fonte: Baccaro et al., 2015.

## ***Inteligência Artificial***

Chama-se de Inteligência Artificial (IA), a capacidade de uma máquina, geralmente um computador, de aprender, após um período de treinamento, o que antes se pensava ser exclusiva da inteligência humana (GEIS et al., 2019). A IA é formada por vários campos de pesquisa, tendo como principais o Aprendizado de Máquina (*Machine Learning*) e o Processamento de Linguagem Natural (*Natural Language Processing*). O Aprendizado de Máquina tem por objetivo realizar previsões a partir de conjuntos de dados, na busca de padrões existentes nestes conjuntos de dados (DUC et al., 2019; PANESAR et al., 2020).

Segundo Mitchell (1997), o objetivo do Aprendizado de Máquina (AM) é a construção de programas que melhorem seu desempenho por meio de exemplos, e esses exemplos são conseguidos através de conjuntos de dados. Ao analisar estes conjuntos de dados, os métodos de Aprendizado de Máquina conseguem entender seus padrões, construindo estruturas para segregá-los em dois ou mais grupos.

O grande objetivo do Aprendizado de Máquina é encontrar padrões presentes em conjuntos de dados, impossíveis de serem encontrados manualmente. Esses padrões podem ser vistos como características presentes nos dados que segregam um ou mais grupos, separando-os. Dessa forma, não é necessário analisar todas as características presentes nos dados, e sim, somente aqueles que realmente são importantes nessa separação.

Para se construir um classificador, cada um dos registros presentes no conjunto de dados deve estar rotulado, isso é, devem pertencer a um dos grupos que se pretende analisar. Esse classificador pode ser do tipo “caixa-preta” ou “caixa-branca”. Os classificadores “caixa-preta” são classificadores onde não se sabe quais são os atributos mais importantes, e muito menos em que faixa de valor. Já os classificadores “caixa-branca”, sabe-se quais foram os atributos que foram utilizados na classificação, e dependendo do classificador “caixa-branca”, em quais faixas esses atributos segregam os grupos.

Pode-se citar as Árvores de Decisão como um dos classificadores “caixa-branca” mais importantes e utilizados. As Árvores de Decisão são importantes pois além de serem métodos de classificação extremamente rápidos, trazem como saída, conhecimento estruturados de forma simples e intuitiva, favorecendo a interpretação do conhecimento gerado.

## **ARTIGO**

XXXX

## AVALIAÇÃO DE PATOGENICIDADE DO FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO *Beauveria bassiana* EM FORMIGAS DO GÊNERO *Atta* spp. UTILIZANDO APRENDIZADO DE MÁQUINA

Simone Cristina dos Santos Moraes<sup>1</sup>, Laurence Rodrigues do Amaral<sup>1</sup><sup>1</sup>Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Campus Patos de Minas, Patos de Minas, Minas, Gerais, Brasil.

✉Corresponding author: laurence@ufu.br

Edited by: XXXX

Received: XXXX.

**Avaliação de patogenicidade do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* em formigas do gênero *Atta* spp. utilizando aprendizado de máquina**

**Abstract.** The application of pesticides increases agricultural productivity, but the frequent and intensive use generates multiple unfavorable externalities. Biological Control, emerged as an alternative to chemical methods, and currently shows significant numbers in the world agricultural market. This method uses natural enemies, in order to minimize the presence of harmful residues to human health, fauna and flora species and the environment. The entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* is commonly used to control insect pests, however, a recommended dosage to control leaf-cutting ants of the genus *Atta* spp., has not yet been reported. Thus, this work evaluated the pathogenicity of this fungus using Machine Learning. The data presented were extracted from an Artificial Biological Control work, carried out under laboratory conditions in the year 2018. The bioassays were carried out with the application of the biopesticide Boveril®. As there is no recommended dosage of *Beauveria* for *Atta* spp., the concentrations were prepared according to the recommendation for the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*). From the results obtained, a data set was built, bringing information about the dosage used in each treatment, and how many days it took to exterminate a certain percentage of ants. The decision tree was generated by the Weka software, version 3.6.11. The values obtained through Machine Learning, found a Boveril® dosage pattern and a significant result that was able to combine efficiency in the death of the ants in as many days as possible.

**Keywords:** Biological Control, *Atta* spp., *Beauveria bassiana*, Machine Learning.

O Controle Biológico (CB), utiliza inimigos naturais, tais como predadores e parasitoides, vírus, nematóides, bactérias e fungos. Desde o início do século XX, é utilizado como uma alternativa em relação aos métodos químicos (Silva et al. 2022), com o intuito de minimizar a presença de resíduos nocivos à saúde humana, espécies da fauna e flora e aos ecossistemas (Parra et al. 2021). A aplicação desses organismos de controle é realizada por encharcamento, pulverização (drones, máquinas agrícolas e outros), ou são aplicados diretamente nas raízes das plantas na forma de pastilha, revestindo sementes ou tratando a raiz no estágio de pré-semeadura (Thakur et al. 2020).

Atualmente três tipos de CB são conhecidos: Natural, Clássico e Aplicado (Van Lenteren et al. 2018). As técnicas utilizadas em cada um dos procedimentos de controle citadas anteriormente, são: 1- conservação (Controle Biológico Natural ou Conservador), 2- introdução (Controle Biológico Clássico), e 3 – multiplicação (Controle Biológico Aplicado ou Aumentativo). Em todas as técnicas é imprescindível que o inimigo natural seja criado em laboratório, pois, os diferentes estágios de vida são fundamentais para as estratégias de diversos programas de CB (Parra & Coelho 2022).

Os organismos mais utilizados em programas de CB em todo o mundo são os fungos entomopatogênicos, além disso, se destacam no percentual de produtos disponível por ativo biológico para comercialização (CropLife 2020). Eles vivem em ambiente terrestre e aquático, e são fundamentais no Manejo Integrado de Pragas (MIP). E mantém diferentes associações com insetos (simbiose, parasitismo e comensalismo) de natureza obrigatória ou facultativa (Rana et al.

2019;2020; Thakur et al. 2020).

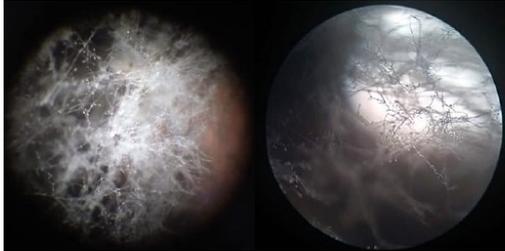
As espécies de fungos entomopatogênicos, ocasionam infecção nos hospedeiros via tegumento. Em síntese, o contágio é realizado por quatro etapas, sendo elas: 1) adesão de estruturas fúngicas à superfície do hospedeiro suscetível, 2) germinação, 3) penetração e 4) colonização interna (Valadares et al. 2020). Na conjuntura atual, em grande maioria os micoinseticidas são derivados de quatro classes principais de fungos: Sordariomycetes, Hyphomycetes, Zygomycetes e Laboulbeniales. As espécies mais utilizadas em programas de CB pertencem aos gêneros *Beauveria* e *metarhizium* (Thakur et al. 2020).

*Beauveria bassiana*, foi descrito pela primeira vez por volta de 1800 como patógeno do bicho-da-seda, por meio de experimentos realizados por Agostino Bassi (IMOULAN et al., 2017). Anos depois, essa espécie foi alocada em seu próprio gênero: *Beauveria vuillemin*, como espécie tipo (Vuillemin 1912). Posteriormente, as cepas de *B. bassiana* foram mundialmente isoladas de cadáveres de insetos e do solo, incluindo inúmeros métodos seletivos que foram se aperfeiçoando de acordo com os avanços das pesquisas técnicas-científicas. No entanto, ainda existem controvérsias de quantas espécies, de fato, já foram descritas (Bustamante et al. 2019).

Microscopicamente, *B. bassiana* é um fungo filamentosos, os esporos assexuados são conídios de coloração inicial branca, podendo chegar ao branco-amarelado, com filamentos septais e sinuosidades transparentes, o diâmetro das hifas variam entre 2,5 e 25 µm (Fig. 1) (Dannon et al. 2020).



**Figura 1.** Esporos e conídios da infecção por *B.bassiana* em formigas *Atta* spp., desta pesquisa.



*B. bassiana* é patógeno de inúmeros insetos-pragas, afetando mais de 700 espécies em diversas ordens da classe Insecta, entre elas: Coleoptera, Lepidoptera, Hemiptera, Diptera, Orthoptera e Hymenoptera. Além disso, o fungo é capaz de atacar os hospedeiros em todas as fases de desenvolvimento: ovos, ninfas, larvas, pupas e adultos (Cabi 2020). O fungo possui ocorrência generalizada em todos os países do mundo exceto em regiões polares. Sobrevive no solo como propágulos dormentes ou como micélio saprotófico, até aderir a um hospedeiro alvo compatível, além disso, ele se associa à plantas como microrganismo endófito ou no ambiente circundante (Jones et al. 2015; Imoulan et al. 2017). Indivíduos da espécie já foram reportados nos continentes da África, Ásia, Europa, América do Norte, Oceania e América do Sul (Cabi 2020).

A vasta gama de hospedeiros de *B.bassiana* inclui pragas florestais e agrícolas de grande importância econômica (Imoulan et al. 2017). As formigas do gênero *Atta* e *Acromyrmex* popularmente designadas como cortadeiras, pertencem a subfamília Myrmicinae, e são a principal praga do reflorestamento brasileiro e outras culturas agrícolas ao redor do mundo. Do ponto de vista econômico, elas atacam demasiadamente cultivos em todas as épocas do ano, e em qualquer fase do desenvolvimento da planta. Folhas, flores, brotos e ramos finos são comumente carregados para o interior dos seus ninhos, a fim de alimentar os fungos simbiotes para assegurar a sobrevivência do formigueiro (Santos & Cazetta 2016; Anjos et al. 1998).

Dado o exposto, o gênero *Beauveria* é o mais estudado em programas de CB, no entanto, uma dosagem recomendada para controlar formigas cortadeiras do gênero *Atta* spp., ainda não foi relatada. Nesse panorama, a Inteligência Artificial (IA), é formada por vários campos de pesquisa, tendo como principais: o Aprendizado de Máquina (*Machine Learning*) e o processamento de Linguagem Natural (*Natural Language Processing*). O Aprendizado de Máquina, tem como intuito realizar previsões a partir de conjuntos de dados na busca de padrões existentes nestes conjuntos de dados (Leiva et al. 2019; Panesar et al. 2020). Portanto, é importante integrar métodos de análises para otimizar a eficiência da empregabilidade do CB.

Parra et al. 2021, Figueiredo 2020 e Donley et al 2022 relatam a necessidade imediata de maior fiscalização do uso de produtos químicos, pois os mesmos acarretam externalidades negativas. Diante disso, essa pesquisa avaliou a patogenicidade de *B.bassiana* em formigas do gênero *Atta* spp., por meio do uso de AM. Os dados apresentados foram extraídos de um trabalho de Controle Biológico Artificial, realizado em condições de laboratório no ano de 2018, com pulverização de Boveril® isolado ESALQ PL63. Como não existe uma dosagem recomendada de *Beauveria* para formigas, as concentrações foram preparadas de acordo com a recomendação utilizada para a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*).

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Genética e Biotecnologia (Geneb) e no Laboratório de Biologia, Zoologia e Entomologia, ambos pertencentes ao Centro Universitário de Patos de Minas (Unipam), no município de Patos de Minas – MG. A coleta das formigas *Atta* spp., foi realizada em áreas pertencentes à Fazenda Santa Cecília, localizada no município de Carmo do Paranaíba – MG.

A área foi explorada por um período de dois dias até a identificação dos ninhos de formigas de *Atta* spp., todos os formigueiros foram encontrados abaixo de cupinzeiros nas pastagens da área estudada. As escavações foram realizadas com o auxílio de uma enxada e as perfurações se delimitaram até o encontro dos ninhos. Foram extraídos em média 120 formigas dos ninhos, utilizando pinça entomológica e EPIs, a fim de evitar a mordida dos exemplares. Em seguida eles foram armazenados em um pote plástico de 500 mL, e no seu interior foi adicionado terra da pastagem da área de estudo, em seguida o pote foi lacrado com uma tampa perfurada, para assegurar a passagem de ar e evitar que as formigas saíssem do pote. Posteriormente, eles foram acondicionados em tubos de ensaio com embebedor de água para garantir a hidratação até o transporte ao (GENEB).

As formigas ficaram sem alimento, e em observação por um período de quatro dias e acondicionadas em estufa climatizada em temperatura 25±1°C. Esse período foi uma estratégia experimental, a fim de descartar a ocorrência de mortalidade das formigas por fatores não relacionados aos bioensaios. No quarto dia, as formigas não ativas e com sintomas de patologias foram descartadas antes da realização das próximas etapas da pesquisa. Precedente as análises de formigas aptas, foram preparados os tratamentos com água destilada e diferentes concentrações do isolado isolado ESALQ PL63. Os detalhes dos tratamentos preparados podem ser vistos na (Tab. 1).

**Tabela 1.** Concentrações de Boveril® utilizadas para preparação dos bioensaios, baseada na dosagem recomendada para a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*), concentração 1x10<sup>8</sup> conídios/g e 625g do produto para 400L.ha-1.

Tratamento	Ingrediente ativo	Dosagem	Conídios/g
1	Água destilada	150 ml	-
2	<i>B. bassiana</i>	1/2 (0,117 g)	5x10 <sup>7</sup>
3	<i>B. bassiana</i>	(0,234 g)	1x10 <sup>8</sup>
4	<i>B. bassiana</i>	2x (0,468 g)	2x10 <sup>8</sup>
5	<i>B. bassiana</i>	3x (0,702 g)	3x10 <sup>8</sup>

Os bioensaios, contabilizaram cinco tratamentos com cinco repetições, totalizando 25 unidades amostrais. As formigas foram armazenadas em potes plásticos de 250 mL, com quatro exemplares em cada, totalizando 100 formigas avaliadas no experimento. Em seguida, o Boveril® foi pulverizado e os potes foram lacrados e transferidos para estufa climatizada, onde as formigas permaneceram sem alimentação e mantidas em temperatura de 25 ± 1 °C, por um período de dez dias (Fig.2) (Loureiro & Monteiro 2005).

**Figura 2.** Tratamentos e armazenamento das unidades amostrais (A), estufa utilizada na conservação das formigas (B).



Diariamente, sempre no mesmo horário, foi realizada a verificação de mortalidade das formigas. Uma pinça entomológica foi utilizada a fim de causar estresse, e com isto averiguar se haveria movimentação. Caso não houvesse, a morte era confirmada, e anotada em um planilha preestabelecida para acompanhar os bioensaios. Para confirmar a eficiência da pesquisa, foi considerado em cada tratamento a média de mortalidade acima de 70%, conforme recomendado por Abbott 1925.



Os dados obtidos foram submetidos à análise de Tukey utilizando o programa estatístico SISVAR®. Com o intuito de verificar se as mortes foram ocasionadas pelo isolado, e não por outros fatores, os cadáveres foram submetidos a estufa climatizada nas mesmas condições descritas anteriormente, por mais um período de cinco dias. Ao fim do prazo estabelecido, eles foram avaliados com o auxílio de lupa e microscópio óptico (Fig.3), para visualizar a esporulação do fungo sob os cadáveres. Os dados gerados foram comparados pelo teste de Tukey, no entanto, as informações foram cruzadas pelo programa estatístico R® Core Team 2018, como pode ser visto na (Tab. 2).

**Figura 3.** Formigas do gênero *Atta* spp., infestadas por ESALQ PL63 (Boveril®).



**Tabela 2.** Porcentagens de mortalidade (média + desvio padrão) de formigas do gênero *Atta* spp., submetidas a diferentes concentrações de Boveril® e de um tratamento testemunha, dez dias após a inoculação (25 ± 1 °C). +DP = Desvio Padrão. Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey.

Tratamentos	Dia 1		Dia 2		Dia 3		Dia 4		Dia 5		Dia 6		Dia 7		Dia 8		Dia 9		Dia 10	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
T1	5.0a	11.2	10.0a	10.0	15.0a	22.4	30.0a	22.4	40.0a	28.5	40.0a	27.4	45.0a	27.4	60.0a	22.4	65.0a	22.4	75.0a	17.7
T2	20.0b	32.6	45.0b	41.1	60.0b	28.5	65.0b	22.4	70.0b	20.9	85.0b	22.4	85.0b	22.4	90.0b	22.4	90.0b	22.4	95.0b	11.2
T3	0.0c	0.0	15.0c	22.4	20.0c	17.7	25.0c	20.9	30.0c	22.4	35.0c	22.4	55.0c	11.2	70.0c	11.2	90.0c	0.0	100.0c	0.0
T4	15.0d	22.4	50.0d	30.6	70.0d	22.4	85.0d	11.2	90.0d	13.7	95.0d	11.2	100.0d	0.0	100.0d	0.0	100.0d	0.0	100.0d	0.0
T5	5.0a	11.2	60.0e	41.8	60.0e	11.2	100.0e	0.0												

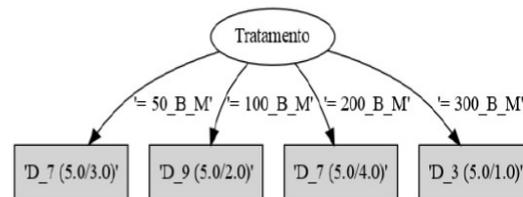
A partir dos dados gerados em laboratório (Tab.2), foi construído um conjunto de dados, com duas colunas. A primeira coluna traz informações sobre o tratamento utilizado, isso é, traz a dosagem utilizada de Boveril®, podendo variar de 50 a 300. A segunda traz informações sobre quantos dias levaram para exterminar uma determinada porcentagem de formigas, isso é, se o valor "D\_7" for encontrado, quer dizer que levaram sete dias para exterminar uma determinada porcentagem de formigas. Os dias podem variar de 1 a 10. O conjunto de dados com 100% de mortes, pode ser visualizado na (Tab. 3).

**Tabela 3.** Conjunto de dados elaborado para formigas de *Atta* spp., com 100% de mortes.

Tratamento	Quantidade de Dias_100%
50% <i>B. bassiana</i>	D_7
50% <i>B. bassiana</i>	D_7
50% <i>B. bassiana</i>	D_9
50% <i>B. bassiana</i>	D_2
50% <i>B. bassiana</i>	No
100% <i>B. bassiana</i>	D_9
100% <i>B. bassiana</i>	D_9
100% <i>B. bassiana</i>	D_9
100% <i>B. bassiana</i>	D_10
100% <i>B. bassiana</i>	D_10
200% <i>B. bassiana</i>	D_2
200% <i>B. bassiana</i>	D_6
200% <i>B. bassiana</i>	D_3
200% <i>B. bassiana</i>	D_4
200% <i>B. bassiana</i>	D_7
300% <i>B. bassiana</i>	D_3
300% <i>B. bassiana</i>	D_3
300% <i>B. bassiana</i>	D_3
300% <i>B. bassiana</i>	D_2
300% <i>B. bassiana</i>	D_3

Na construção do conhecimento para tomada de decisão, foi utilizado o software Weka <https://www.cs.waikato.ac.nz/ml/weka/> versão 3.6.11. O Weka utiliza o método J48 na construção de árvores de decisão. A partir do conjunto de dados apresentado na (Tab.3), foi gerada uma árvore de decisão apresentada na (Fig.4).

**Figura 4.** Árvore de decisão gerada para 100% das mortes das formigas.



As árvores de decisão são formadas por ramos e nós, e ela apresenta os padrões mais fortes encontrados. Os valores entre parênteses se referem a quantos registros do conjunto de dados foram adicionados a um determinado padrão e quantos não possuem aquele padrão. Isso é, ao encontrar o valor (5/3), quer dizer que cinco registros do conjunto de dados possuem o padrão apresentado na seta (50\_B\_M) mas, que somente dois (5-3), foram classificados como "D\_7".

É importante ressaltar que buscou-se encontrar padrões que aliassem, eficiência na morte dos soldados com o maior número de dias possível. Desta forma, como pode ser visto na (Fig.4), a melhor dosagem encontrada para o conjunto com 100% de mortes foi a 100\_B\_M. Ela



exterminou 60% das formigas (3 de 5), no nono dia do experimento (D\_9). Além de mostrar o padrão mais forte, as árvores de decisão podem ser utilizadas como ferramentas de seleção de atributos, mostrando características decisivas na classificação. Ao apontar a dosagem 100\_B\_M como a mais promissora, analisou-se o conjunto para dados buscando verificar qual o padrão encontrado para os dois registros que não se encaixaram no padrão "D\_9", apresentado acima. Como pode ser visto na (Tab.3), encontrou-se para os dois registros restantes o valor "D\_10", mostrando a força do padrão apontado pela árvore de decisão. Isso quer dizer que 60% das formigas foram mortas no nono dia de experimento e as demais 40%, foram mortas no décimo e último dia de experimento. Um resultado significativo que conseguiu aliar eficiência na morte das formigas na maior quantidade de dias possível.

### Contribuições dos Autores

SCSM participou das coletas, triagens, identificações, análise dos dados e elaboração do manuscrito. LRA participou na análise dos dados e revisão do manuscrito.

### Declaração de Conflito de Interesse

Os autores informam não haver potencial conflito de interesses na publicação deste artigo.

### Referências

- Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. econ. Entomol*, 18(2), 265-267.
- Anjos, N. D., Della Lucia, T. M. C., & Mayhé-Nunes, A. J. (1998). Guia prático sobre formigas cortadeiras em reflorestamentos. *Ponte Nova: Graff Cor*.
- Bustamante, D. E., Oliva, M., Leiva, S., Mendoza, J. E., Bobadilla, L., Angulo, G., & Calderon, M. S. (2019). Phylogeny and species delimitations in the entomopathogenic genus *Beauveria* (Hypocreales, Ascomycota), including the description of *B. peruviensis* sp. nov. *Mycologia*, 58, 47.
- Behie, J. S. et al. (2018). Plant tissue localization of the endophytic insect pathogenic fungi ScienceDirect Plant tissue localization of the endophytic insect pathogenic fungi *Metarhizium* and *Beauveria*. *Fungal Ecol*, 13, 112-119.
- Cabi. 2020. *Beauveria bassiana* (White Muscardine Fungus). *Invasive Species Compendium*. Disponível em <<https://www.cabi.org/isc/datasheet/8785#REF-DDB-25>> . Acesso em 11 out. 2022.
- CropLife 2020. Disponível em <<https://croplifebrasil.org/noticias/agentes-biologicos-interacoes-da-natureza-levadas-para-a-agricultura-moderna/>>. Acesso: 29 nov. 2022.
- Dannon, H. F., et al. (2020). Toward the efficient use of *Beauveria bassiana* in integrated cotton insect pest management. *Journal of Cotton Research*, v. 3, n. 1, p. 1-21.
- Donley, N., Bullard, R. D., Economos, J., Figueroa, I., Lee, J., Liebman, A. K., ... & Shafiei, F. (2022). Pesticides and environmental injustice in the USA: root causes, current regulatory reinforcement and a path forward. *BMC public health*, 22(1), 1-23.
- Duc, T. L., Leiva, R. G., Casari, P., & Östberg, P. O. (2019). Machine learning methods for reliable resource provisioning in edge-cloud computing: A survey. *ACM Computing Surveys (CSUR)*, 52(5), 1-39.
- Ferreira, D. F. (2011). Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e agrotecnologia*, 35, 1039-1042.
- Figueiredo, A. R. (2022). *Nos corpos e nos territórios: impactos do agronegócio de soja e milho em Belterra-PA* (Doctoral dissertation).
- Imoulan, A., Hussain, M., Kirk, P. M., El Meziane, A., & Yao, Y. J. (2017). Entomopathogenic fungus *Beauveria*: host specificity, ecology and significance of morpho-molecular characterization in accurate taxonomic classification. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 20(4), 1204-1212.
- Loureiro, E. D. S., & Monteiro, A. C. (2005). Patogenicidade de isolados de três fungos entomopatogênicos a soldados de *Atta sexdens sexdens* (Linnaeus, 1758)(Hymenoptera: Formicidae). *Revista Árvore*, 29, 553-561.
- Panesar, S. S., Klot, M., Parrish, R., Fernandez-Miranda, J., Cagle, Y., & Britz, G. W. (2020). Promises and perils of artificial intelligence in neurosurgery. *Neurosurgery*, 87(1), 33-4.
- Parra, J. R. P., Pinto, A. D. S., Nava, D. E., Oliveira, R. C. D., & Diniz, A. J. F. (2021). *Controle biológico com parasitoides e predadores na agricultura brasileira*. Ied. Piracicaba: FEALQ. v. 1, 592 p.
- Parra, J. R. P., & Coelho Jr, A. (2022). Insect rearing techniques for biological control programs, a component of sustainable agriculture in Brazil. *Insects*, 13(1), 105.
- Paul Vuillemin, M. (1912). *Beauveria*, nouveau genre de Verticilliacées. *Bulletin de la société botanique de France*, 59(1), 34-40.
- Rana, K. L., Kour, D., Sheikh, I., Yadav, N., Yadav, A. N., Kumar, V., ... & Saxena, A. K. (2019). Biodiversity of endophytic fungi from diverse niches and their biotechnological applications. *Advances in endophytic fungal research*, 105-144.
- Rana, K. L., Kour, D., Kaur, T., Sheikh, I., Yadav, A. N., Kumar, V., ... & Dhaliwal, H. S. (2020). Endophytic microbes from diverse wheat genotypes and their potential biotechnological applications in plant growth promotion and nutrient uptake. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 90(5), 969-979.
- R Core Team (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Santos, T. T., & Cazetta, M. L. (2016). Formigas da tribo Attini e sua interação com micro-organismos. *Revista Científica da FHO/UNIARARAS*, 4(1).
- Silva, F. H. K. P. da.; Antunes, L. F. de S.; Vaz, A. F. de S.; Silva, M. S. R. de A. da. (2022). Pesticides in Brazil: an understanding of the current scenario of use and the properties of the soil that act on the dynamics and retention of these molecules. *Research, Society and Development*, 11(9), e7911931614. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i9-31614>
- Van Lenteren, J. C., Bolckmans, K., Köhl, J., Ravensberg, W. J., & Urbaneja, A. (2018). Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *BioControl*, 63(1), 39-59.
- Valadares-Inglis, M. C., Lopes, R. B., & Faria, M. R. (2020). Controle de artrópodes-praga com fungos entomopatogênicos. *Controle biológico de pragas da agricultura. Embrapa, Brasília*, 201-236.
- Team, R. C. (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org>
- Thakur, N., Kaur, S., Tomar, P., Thakur, S., & Yadav, A. N. (2020). Microbial biopesticides: current status and advancement for sustainable agriculture and environment. In *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering* (pp. 243-282). Elsevier.

## CONCLUSÃO

O Aprendizado de Máquina é uma ferramenta que busca padrões de informações estatísticas que vão além da capacidade humana e programas de estatística básica. Com isso, a sua aplicabilidade é fundamental no desenvolvimento de pesquisas de cunho científico. A necessidade de novas alternativas de controle de pragas que se diferem do controle químico, é urgente.

Portanto, acredita-se que esse trabalho é a primeira contribuição do uso de Inteligência Artificial, mais precisamente de Aprendizado de Máquina, aplicado no Controle Biológico Artificial. A árvore de decisão gerada através do software Weka versão 3.6.11, encontrou a dosagem ideal de Boveril® isolado ESALQ PL63 para aplicação em formigas do gênero *Atta* spp., em condições de laboratório. Além disso, foi encontrado um padrão de quantos dias são necessários para exterminar 100% das formigas. Consegue-se exterminar 60% das formigas com nove dias de aplicação e os restantes 40% são exterminados no décimo e último dia de experimento. Esse resultado encontrado mostra-se eficiente com probabilidade do fungo *Beauveria bassina* acometer a rainha, obtendo-se um resultado mais eficiente e duradouro.

Dessa forma, pode-se concluir que o uso de métodos de Aprendizado de Máquina pode contribuir na busca desses padrões, fornecendo aos pesquisadores conhecimento útil na tomada de decisão.

Acredita-se que até o momento presente, os resultados apresentados nessa pesquisa, não foram relatados na literatura. Com isso, novos estudos devem ser empregados para que os padrões encontrados por Aprendizado de Máquina orientem futuros experimentos em campo, e viabilize a comercialização de bioprodutos que apresentem percentuais mínimos de Periculosidade Ambiental e Risco ambiental, corroborando com técnicas que não prejudiquem, ainda mais, a Biosfera do planeta Terra.

## REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W. S. A method for computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**. College Park, v. 18, p. 265-267, 1925. Acesso em: 04 dez. 2022. <https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>
- AGROFIT 2022. Sistemas de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: [http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso: 04 dez.2022.
- AGUDELO, F. et al. Some naturally occurring insect pathogens in Colombia. **Turrialba**, v. 27, n. 4, p. 423-424, 1977.
- AKUTSE, K, S. et al. Ovicidal effects of entomopathogenic fungal isolates on the invasive fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 143, n. 6, p. 626-634, 2019. <https://doi.org/10.1111/jen.12634>
- ALCALA C, P. et al. Biology and behaviour of *Premnotrypes suturicallus* Kuschel (Col.: Curculionidae). **Revista Peruana de Entomologia**, v. 19, n. 1, p. 49-52, 1976.
- ALMENARA, D. P. et al. Nematoides entomopatogênicos. In: SILVA NETO, M. A. C. da; WINTER, C.; TERMIGNONI, C. (Ed.). **Tópicos avançados em entomologia molecular**. Rio de Janeiro, INCT-EM, p. 1-40, 2012.
- ALVES, L. F. A. et al. First record of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliales) on adults of cassava lace bug *Vatiga manihotae* (Drake) (Hemiptera: Tingidae) in Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 79, p. 309-311, 2012. <https://doi.org/10.1590/S1808-16572012000200024>
- AMARAL, D, S. et al. Non-crop vegetation associated with chili pepper agroecosystems promote the abundance and survival of aphid predators. **Biological Control**, v. 64, n. 3, p. 338-346, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2012.12.006>

ANJOS, N. dos; DELLA LUCIA, T. M. C.; MAYHÉ-NUNES, A. J. Guia prático sobre formigas cortadeiras em reflorestamentos. **Ponte Nova: Graff Cor**, 1998.

AntWeb. (2022) Version 8.83. **California Academy of Science**, online at <https://www.antweb.org>. Acesso: 30 nov. 2022.

ARAÚJO, Roberto Melo de. Análise da conjuntura atual, desafios e oportunidades do uso do controle biológico no manejo de resistência de pragas às plantas geneticamente modificadas de algodão, milho e soja com tecnologia BT no Brasil. **Tese de Doutorado**, Fundação Getúlio Vargas, 2022.

BACCARO, Fabricio B. et al. Guia para os gêneros de formigas do Brasil. **Manaus: Editora INPA**, v. 388, 2015.

BAIOTTO, Elisangela Wisch et al. A riqueza de subfamílias de Formicidae (Hymenoptera) presentes no solo do campus da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí, RS, Brasil. **Salão do Conhecimento**, 2015.

BALSAMO-CRIVELLI, G. Zwei neuen Arten Mucedineen, Botrytis Bassiana und Mucor radicans, und über die Enticckelung der ersteren Art im Seidenwurme. **Linnaea**, v. 10, p. 609-618, 1835.

BARBARA, D. J.; CLEWES, E. Plant pathogenic *Verticillium* species: how many of them are there?. **Molecular plant pathology**, v. 4, n. 4, p. 297-305, 2003.  
<https://doi.org/10.1046/j.1364-3703.2003.00172.x>

BARDEN, Phillip. Fossil ants (Hymenoptera: Formicidae): ancient diversity and the rise of modern lineages. **Myrmecological News**, v. 24, n. 1, p. 30, 2017.

BARRATT, B. I. P. et al. Progress in risk assessment for classical biological control. **Biological control**, v. 52, n. 3, p. 245-254, 2010.  
<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.02.012>

BARRATT, B.I.P.; MORAN, V.C.; BIGLER, F. et al. The status of biological control and recommendations for improving uptake for the future. **BioControl** **63**, 155–167, 2018.

<https://doi.org/10.1007/s10526-017-9831-y>

BEHIE, S. W.; JONES, S. J.; BIDOCHKA, M. J. Plant tissue localization of the endophytic insect pathogenic fungi *Metarhizium* and *Beauveria*. **Fungal Ecology**, **13**, 112–119, 2015.

<https://doi.org/10.1016/j.funeco.2014.08.001>

BENASSI, V. L. R. M. Levantamento dos inimigos naturais da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferr.) (Coleoptera: Scolytidae) no norte do Espírito Santo. **Anais Sociedade Entomologica do Brasil**, v. 24, p. 635-638, 1995.

<https://doi.org/10.37486/0301-8059.v24i3.1076>

BERGOLD, G. Die isolierung des polyeder-virus und die natur der polyeder. **Zeitschrift für Naturforschung B**, v. 2, n. 3-4, p. 122-143, 1947.

<https://doi.org/10.1515/znb-1947-3-408>

BERIS, E. I. et al. Pathogenicity of three entomopathogenic fungi on pupae and adults of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). **Journal of Pest Science**, v. 86, n. 2, p. 275-284, 2013.

<https://doi.org/10.1007/s10340-012-0468-4>

BLEICHER, E. et al. Effect of the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and insecticides on populations of the boll weevil *Anthonomus grandis* Boh. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 23, n. 1, p. 131-134, 1994.

<https://doi.org/10.37486/0301-8059.v23i1.918>

BOLTON, B. (2022). **AntCat. An online catalog of the ants of the world**. Disponível em <https://www.antweb.org/description.do?family=formicidae&rank=family> Acesso em: 29 nov. 2022.

BOLTON, B. (2022). **AntCat. An online catalog of the ants of the world**. Disponível em <https://www.antweb.org/description.do?subfamily=myrmicinae&rank=subfamily> Acesso em: 01 dez. 2022.

BOLTON, B. (2022). **AntCat. An online catalog of the ants of the world**. Disponível em <https://www.antweb.org/description.do?subfamily=myrmicinae&genus=acromyrmex&rank=genus> . Acesso em: 04 dez. 2022.

BOLTON, B. (2022). **AntCat. An online catalog of the ants of the world**. Disponível em <https://www.antweb.org/description.do?subfamily=myrmicinae&genus=atta&rank=genus> Acesso em: 04 dez. 2022.

BRASIL. (1989). Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989. **Legislação Federal de Agrotóxicos Brasília**, DF, julho 1989. Disponível em [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/17802.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/17802.htm) . Acesso em: 11 out.2022.

BRASIL. (2002). Decreto nº 4.074, de 04/01/2002. **Regulamenta a Lei nº 7.802**, de 11 de julho de 1989. Disponível em [https://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/decreto/2002/d4074.htm](https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2002/d4074.htm) Acesso em 11 out. 2022.

BRASIL. (2012) Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA. 2012. **Manual de procedimentos para o registro de agrotóxicos. Coordenação Geral de Agrotóxico e Afins**. Brasília. 68p.

BRASIL. (2022). Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA. 2022. **CMN aprova elevação dos limites da receita anual para efeito da classificação do produtor rural**. Disponível em: < <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/cmn-aprova-elevacao-dos-limites-da-receita-anual-para-efeito-da-classificacao-do-produtor-rural>>. Acesso em: 15 nov. 2022.

BRASIL. (2022). Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA. 2022. **Defensivos agrícolas de baixo impacto têm prioridade de registro.** Disponível em: < <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/defensivos-agricolas-de-baixo-impacto-tem-prioridade-de-registro>>. Acesso em: 15 nov. 2022.

BRASIL. (2022). Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA. 2022. **Novos produtos de baixo impacto para o controle de pragas têm registro publicado.** Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias-2022/novos-produtos-de-baixo-impacto-para-o-controle-de-pragas-tem-registro-publicado>. Acesso em: 04 dez. 2022.

BUENO, Adeney de Freitas et al. Manejo de pragas com parasitoides. **Bioinsumos na cultura da soja. Parte 2-Tecnologia de aplicação**, 2022.

BUSTAMANTE, D. E. et al. Phylogeny and species delimitations in the entomopathogenic genus *Beauveria* (Hypocreales, Ascomycota), including the description of *B. peruviensis* sp. nov. **MycKeys**, v. 58, p. 47, 2019.  
<https://doi.org/10.3897/mycokeys.58.35764>

CABI. 2020. *Beauveria bassiana* (White Muscardine Fungus). **Invasive Species Compendium**. Disponível em < <https://www.cabi.org/isc/datasheet/8785#REF-DDB--25>> . Acesso em 11 out. 2022.

CARNEIRO, R. M. D.G. et al. Pathogenicity of *Paecilomyces fumosoroseus* isolate CG 259 to *Eurhizococcus brasiliensis* Hempel (Hemiptera: Margarodidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 23, n. 2, p. 345-348, 1994.  
<https://doi.org/10.37486/0301-8059.v23i2.950>

CARSON, R. Silent spring. In: **Thinking About the Environment**. Routledge, 2015. p. 150-155.

CHRISTIAN, P. D; POSSEE, R. D. Insect Viruses. **Encyclopedia of Life Sciences**, [s.l.], p.1-12, 15 jul. 2008.  
<https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0020712>

COCK, M. J. et al. Do new access and benefit sharing procedures under the convention on biological diversity threaten the future of biological control?. **BioControl**, v. 55, n. 2, p. 199-218, 2010.

<https://doi.org/10.1007/s10526-009-9234-9>

COSTA, V. A; BERTI FILHO, Evôneo; SATO, M. E. Parasitóides e predadores no controle de pragas. **Controle biológico de pragas: na prática**, 2006.

CROPLIFE 2020. Disponível em <https://croplifebrasil.org/noticias/agentes-biologicos-interacoes-da-natureza-levadas-para-a-agricultura-moderna/>. Acesso: 29 nov. 2022.

DANNON, H. Fabrice et al. Toward the efficient use of Beauveria bassiana in integrated cotton insect pest management. **Journal of Cotton Research**, v. 3, n. 1, p. 1-21, 2020.

<https://doi.org/10.1186/s42397-020-00061-5>

DAQUILA, Bruno Vinicius. Histopatologia do intestino médio em larvas da Diatraea saccharalis Fabricius, 1794 (Lepidoptera: Crambidae) tratadas com Bacillus thuringiensis (Bacillales: Bacillaceae). **Dissertação de Mestrado**, Universidade Estadual de Maringá, 2019.

DA SILVA, Francinne Hellora Kaczurowski Pereira et al. Agrotóxicos no Brasil: uma compreensão do cenário atual de utilização e das propriedades do solo que atuam na dinâmica e retenção destas moléculas. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 9, p. e7911931614-e7911931614, 2022.

<https://doi.org/10.33448/rsd-v11i9.31614>

DEBACH, Paul et al. Biological control of insect pests and weeds. **Biological control of insect pests and weeds.**, 1964.

DEBACH, Paul et al. **Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas.**, 1968.

DE CASTRO, M. E. B. et al. Controle de artrópodes-praga com vírus entomopatogênicos. In: FONTES, E. M. G.; VALADARES-INGLIS, M. C. (Eds.). **Controle biológico de pragas da agricultura**. Brasília: Embrapa, 2020, p. 237-273.

DIAS, Maria Fernanda Ribeiro; PASCUTTI, Pedro Geraldo; DA SILVA, Manuela Leal. APRENDIZADO DE MÁQUINA E SUAS APLICAÇÕES EM BIOINFORMÁTICA. **Semioses**, v. 10, n. 1, p. 23-37, 2016.

<https://doi.org/10.15202/10.15202/1981-996X.2016v10n1p23>

DOLINSKI, C. M. Controle de artrópodes-praga com nematoides entomopatogênicos. In: FONTES, E. M. G.; VALADARES-INGLIS, M. C. (Eds.). **Controle biológico de pragas da agricultura**. Brasília: Embrapa, p. 237-273 2020.

DONLEY, N. et al. Pesticides and environmental injustice in the USA: root causes, current regulatory reinforcement and a path forward. **BMC public health**, v. 22, n. 1, p. 1-23, 2022. <https://doi.org/10.1186/s12889-022-13057-4>

DUC, Thang Le et al. Machine learning methods for reliable resource provisioning in edge-cloud computing: A survey. **ACM Computing Surveys (CSUR)**, v. 52, n. 5, p. 1-39, 2019. <https://doi.org/10.1145/3341145>

FAO. (2022). Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAO Soils Portal**. Disponível em <https://www.fao.org/soils-portal/about/all-definitions/en/>. Acesso em: 26 nov. 2022.

FARIA, M. R. et al. Controle de qualidade de produtos comerciais à base de fungos para o manejo de invertebrados (insetos, ácaros, nematoides) em sistemas agropecuários. 2022. Brasília, DF: **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, 2022.

FERNANDES, P. M. et al. Control of *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832)(Isoptera: Termitidae) with *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. under field conditions. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 20, n. 1, p. 46-49, 1991.

<https://doi.org/10.37486/0301-8059.v20i1.685>

FERREIRA, D. F. (2011). Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e agrotecnologia**, 35, 1039-1042.

<https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>

FIGUEIREDO, Annelyse Rosenthal. Nos corpos e nos territórios: impactos do agronegócio de soja e milho em Belterra-PA. 2022. 226 f. Tese (**Doutorado em Saúde Pública**) - Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2022.

FINKLER, Christine Lamenha Luna. CONTROLE DE INSETOS: UMA BREVE REVISÃO. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 8, p. 169-189, 2013.

FONTES, Eliana Maria Gouveia. et al. Controle biológico de pragas da agricultura. **editoras técnicas**. Brasília, DF, Embrapa, 510 p, 2020.

FRESA, R. et al. Entomopathogenic fungi observed in lepidopterous larvae injurious to crops in the Argentine Republic. **Idia**, n. 373-378, p. 149-155, 1979.

GAY, Hannah. Before and after Silent Spring: From chemical pesticides to biological control and integrated pest management—Britain, 1945–1980. **Ambix**, v. 59, n. 2, p. 88-108, 2012.

<https://doi.org/10.1179/174582312X13345259995930>

GEIS, J. Raymond et al. Ethics of artificial intelligence in radiology: summary of the joint European and North American multisociety statement. **Radiology**, v. 293, n. 2, p. 436-440, 2019.

<https://doi.org/10.1148/radiol.2019191586>

GUPTA, Suman; DIKSHIT, A. K. Biopesticides: An ecofriendly approach for pest control. **Journal of Biopesticides**, v. 3, n. Special Issue, p. 186, 2010.

HABIB M. E. M.; ANDRADE, C.F. Epizootic in larvae of *Brassolis sophor*p (Linnaeus, 1758) caused by *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., with studies on identification and symptomatology. **Anais da Sociedade Entomologica do Brasil**, 6(2):230-237, 1977.  
<https://doi.org/10.37486/0301-8059.v6i2.117>

HEIMPEL, George E.; MILLS, Nicholas J. **Biological control**. Cambridge University Press, 2017.  
<https://doi.org/10.1017/9781139029117>

HOFFMANN, C. B.; NEWMAN, G. C.; FOERSTER, L. A. Incidência estacional de doenças e parasitas em populações naturais de *Anticarsia gemmatalis* Hubner, 1818 e *Plusia* spp. em soja. **An Soc Entomol Brasil**, v. 8, p. 115-124, 1979.  
<https://doi.org/10.37486/0301-8059.v8i1.172>

HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E.O. 1990. **The Ants**. Harvard University Press. Harvard. 732 pp.  
<https://doi.org/10.1007/978-3-662-10306-7>

HÖRSTADIUS, SVEN. LINNAEUS, animals and man. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 6, n. 4, p. 269-275, 1974.  
<https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1974.tb00725.x>

HUDSON, W. G.; FRANK, J. H.; CASTNER, James L. Biological control of *Scapteriscus* spp. mole crickets (Orthoptera: Gryllotalpidae) in Florida. **Bulletin of the ESA**, v. 34, n. 4, p. 192-198, 2014.  
<https://doi.org/10.1093/besa/34.4.192>

IBAMA. (2021). **Relatórios de comercialização de agrotóxicos**. IBAMA - Ministério do Meio Ambiente. <http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-decomercializacao->. Acesso: 09 out. 2022.

IMOULAN, A. et al. Entomopathogenic fungus *Beauveria*: host specificity, ecology and significance of morpho-molecular characterization in accurate taxonomic classification.

**Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 20, n. 4, p. 1204-1212, 2017.

<https://doi.org/10.1016/j.aspen.2017.08.015>

JOLIVET, L. et al. Miocene detachment in Crete and exhumation P-T-t paths of high-pressure metamorphic rocks. **Tectonics**, v. 15, n. 6, p. 1129-1153, 1996.

<https://doi.org/10.1029/96TC01417>

JURAT-FUENTES, J. L.; JACKSON, Trevor A. Bacterial entomopathogens. **Insect pathology**, v. 2, p. 265-349, 2012.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384984-7.00008-7>

KISTNER, D.H. The social insects' bestiary. In: HERMANN, H.R. (Ed.): **Social Insects**. – Academic Press, NY, pp. 1-244, 1982.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-342203-3.50008-4>

KLEESPIES, R.G.; ZIMMERMANN, G. Production of blastospores by three strains of *Metarhizium anisopliae* (Metch.) sorokin in submerged culture. **Biocontrol Science and Technology**, v.2, n.2, p.127–135, 1992.

<https://doi.org/10.1080/09583159209355226>

KOPPENHÖFER, A. M.; JACKSON, T. A.; KLEIN, M. G. Bacteria for use against soil-inhabiting insects. **Manual of techniques in invertebrate pathology**. Academic Press, San Diego, p. 129-149, 2012.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386899-2.00005-1>

KOPPERT DO BRASIL (2022). **Site da Koppert do Brasil**. Disponível em

<https://www.koppert.com.br/noticias/koppert-do-brasil-adquire-a-bug-agentes-biologicos-e-reforca-sua-posicao-no/>, acesso em: 18 nov. 2022.

LANFRANCO, D. M.; AGUILAR, A. M.; HORCOS, R. A.; BUCHNER, J.F. Parasitoides nativos en el control de la polilla del brote del pino (*Rhyacionia buoliana*): ¿un complejo funcional?. **Bosque**, 15(1):15-26, 1994.

<https://doi.org/10.4206/bosque.1994.v15n1-02>

LORD, Jeffrey C. From Metchnikoff to Monsanto and beyond: The path of microbial control. **Journal of invertebrate pathology**, v. 89, n. 1, p. 19-29, 2005.

<https://doi.org/10.1016/j.jip.2005.04.006>

LORD, Jeffrey C.; MAGALHAES, B. P.; ROBERTS, Donald W. Effects of the fungus *Beauveria bassiana* (Bal.) Vuill on behavior, oviposition, and susceptibility to secondary infections of adult *Cerotoma arcuata* (Olivier, 1791) (Coleoptera: chrysomelidae). **Embrapa Arroz e Feijão-Artigo em periódico indexado (ALICE)**,1987.

<https://doi.org/10.37486/0301-8059.v16i1.472>

LORENZATO, D. et al. Natural enemy parasites for the control of pests of soyabean (*Glycine max* (L.) Merrill). **Agronomia Sulriogradense**, v. 18, n. 1, p. 23-36, 1982.

LORITO, Matteo et al. Translational research on *Trichoderma*: from omics to the field. **Annual review of phytopathology**, v. 48, p. 395-417, 2010.

<https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-073009-114314>

LOUREIRO, Elisângela de Souza; MONTEIRO, Antonio Carlos. Patogenicidade de isolados de três fungos entomopatogênicos a soldados de *Atta sexdens sexdens* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera: Formicidae). **Revista Árvore**, v. 29, p. 553-561, 2005.

<https://doi.org/10.1590/S0100-67622005000400007>

MARQUES, E. J. et al. Effect of the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and some insecticides for the control of *Castnia licus*, D., the giant sugarcane borer. **Brasil Acucareiro**, v. 102, n. 5/6, p. 36-39, 1984.

MASCARIN, Gabriel Moura; JARONSKI, Stefan T. The production and uses of Beauveria bassiana as a microbial insecticide. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 32, n. 11, p. 1-26, 2016.

<https://doi.org/10.1007/s11274-016-2131-3>

MASHTOLY, Tamer A. et al. Enhanced toxicity of Bacillus thuringiensis japonensis strain Buibui toxin to oriental beetle and northern masked chafer (Coleoptera: Scarabaeidae) larvae with Bacillus sp. NFD2. **Journal of economic entomology**, v. 103, n. 5, p. 1547-1554, 2010.

<https://doi.org/10.1603/EC10028>

MASHTOLY, Tamer A. et al. Enhanced toxicity of Bacillus thuringiensis subspecies kurstaki and aizawai to black cutworm larvae (Lepidoptera: Noctuidae) with Bacillus sp. NFD2 and Pseudomonas sp. FNFD1. **Journal of Economic Entomology**, v. 104, n. 1, p. 41-46, 2011.

<https://doi.org/10.1603/EC10210>

MEYER, Maurício Conrado et al. Bioinsumos na cultura da soja. **editores técnicos** -Brasília, DF: Embrapa, 550 p. 2022.

MITCHELL, Tom M. **Machine learning**. New York: McGraw-hill, 1997.

[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1689\(199909\)9:3<191::AID-STVR184>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1689(199909)9:3<191::AID-STVR184>3.0.CO;2-E)

MONNERAT, R. et al. Produção e controle de qualidade de produtos biológicos à base de Bacillus thuringiensis para uso na agricultura. Brasília, DF: **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, 34p, 2018.

MORAES, Rodrigo Fracalossi de et al. Agrotóxicos no Brasil: padrões de uso, política da regulação e prevenção da captura regulatória. In: **Agrotóxicos no Brasil: padrões de uso, política da regulação e prevenção da captura regulatória**. 2019.

MORDOR INTELLIGENCE. (2022). Biological control market - growth, trends, covid-19 impact, and forecasts (2022 - 2027). Disponível em:

<<https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/biological-control-market>>. Acesso em: 15 nov.2022.

MUELLER, Ulrich G.; POULIN, Jessica; ADAMS, Rachelle MM. Symbiont choice in a fungus-growing ant (Attini, Formicidae). **Behavioral Ecology**, v. 15, n. 2, p. 357-364, 2004.  
<https://doi.org/10.1093/beheco/arh020>

MURTHY, N.K. et al. Antibacterial Activity of Curcuma longa (Turmeric) Plant Extracts against Bacterial Wilt of Tomato Caused by Ralstoniasolanacearum. **International Journal of Science and Research**, v. 4, n. 1, p. 2136-41, 2015.

MYCOBANK. (2022). Disponível em:  
<https://www.mycobank.org/page/Name%20details%20page/name/Beauveria%20bassiana>,  
Acesso em: 21 out. 2022.

NAVA, Dori Edson. Controle biológico de insetos-praga em frutíferas de clima temperado: uma opção viável, mas desafiadora. Pelotas: **Embrapa Clima Temperado**, 20 p. 2007.

NOURRISSON, C. et al. Species of Metarhizium anisopliae complex implicated in human infections: retrospective sequencing study. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 23, n. 12, p. 994-999, 2017.  
<https://doi.org/10.1016/j.cmi.2017.05.001>

OLIVEIRA, L. R. et al. Produção massal de Beauveria bassiana: história e perspectivas no brasil e no mundo. Ciências Agrárias: Conhecimentos Científicos e Técnicos e Difusão de Tecnologias 2. 1ed.Ponta Grossa: **Atena Editora**, v. 1, p. 196-211, 2020.  
<https://doi.org/10.22533/at.ed.90920160718>

ONU. (2022). Organização das Nações Unidas. Objetivos de desenvolvimento sustentável. **Site da ONU**, 2022. Disponível: <<https://brasil.un.org/pt-br/206554-artigo-8-bilhoes-de-pessoas-uma-humanidade>>, acesso em: 16 nov. 2022.

PALMA, Leopoldo et al. Bacillus thuringiensis toxins: an overview of their biocidal activity. **Toxins**, v. 6, n. 12, p. 3296-3325, 2014.  
<https://doi.org/10.3390/toxins6123296>

PANESAR, Sandip S. et al. Promises and perils of artificial intelligence in neurosurgery. **Neurosurgery**, v. 87, n. 1, p. 33-44, 2020.  
<https://doi.org/10.1093/neuros/nyz471>

PARNELL, J. Jacob et al. From the lab to the farm: an industrial perspective of plant beneficial microorganisms. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 1110, 2016.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01110>

PARRA, José Roberto Postali; COELHO JR, Aloisio. Insect rearing techniques for biological control programs, a component of sustainable agriculture in Brazil. **Insects**, v. 13, n. 1, p. 105, 2022.  
<https://doi.org/10.3390/insects13010105>.

PARRA, J.R.P. et al. **Controle Biológico no Brasil com parasitoides e predadores na agricultura brasileira**. Piracicaba: FEALQ, 592 p., 2021.

PARRA, José RP. Controle biológico na agricultura brasileira. **Entomological Communications**, v. 1, p. 2675-1305, 2019.  
<https://doi.org/10.37486/2675-1305.ec01002>

PARRA, José Roberto Postali. Biological control in Brazil: an overview. **Scientia Agricola**, v. 71, p. 420-429, 2014.  
<https://doi.org/10.1590/0103-9016-2014-0167>

PARRA, José Roberto Postali et al. **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. Editora Manole Ltda, 2002.

POINAR JR, George O. et al. Characterization and field application of Heterorhabditis bacteriophora strain HP88 (Heterorhabditidae: Rhabditida). **Revue de Nématologie**, v. 13, n. 4, p. 387-393, 1990.

PREBUS, Matthew. Insights into the evolution, biogeography and natural history of the acorn ants, genus *Temnothorax* Mayr (hymenoptera: Formicidae). **BMC evolutionary biology**, v. 17, n. 1, p. 1-22, 2017.

<https://doi.org/10.1186/s12862-017-1095-8>

PRUETT, C. J. H. et al. Some entomopathogenic fungi from the Bolivian Orient. **Entomology Newsletter**, n. 17, p. 17-24, 1985.

R CORE TEAM (2014). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.

RANA, Kusam Lata et al. Endophytic microbes from diverse wheat genotypes and their potential biotechnological applications in plant growth promotion and nutrient uptake. **Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences**, v. 90, n. 5, p. 969-979, 2020.

<https://doi.org/10.1007/s40011-020-01168-0>

RANA, Kusam Lata et al. Biodiversity of endophytic fungi from diverse niches and their biotechnological applications. **Advances in endophytic fungal research**, p. 105-144, 2019.

[https://doi.org/10.1007/978-3-030-03589-1\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-030-03589-1_6)

REID, Walter V. et al. **Ecosystems and human well-being-Synthesis: A report of the Millennium Ecosystem Assessment**. Island Press, 2005.

<https://doi.org/10.1111/j.1728-4457.2005.00073.x>

REZENDE, M. Q. et al. Extrafloral nectaries of associated trees can enhance natural pest control. **Agriculture, ecosystems & environment**, v. 188, p. 198-203, 2014.

<https://doi.org/10.1016/j.agee.2014.02.024>

RODRIGUES, Caio Junior Balduino Coutinho et al. Estudo morfológico de isolados de *Beauveria bassiana* antes e após reisolamento em *Rhipicephalus microplus*. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 38, n. Supl. 3, p. 91-97, 2016.

RODRÍGUEZ-PALOMERA, Marcia et al. Enemigos naturales asociados a Diaphorina citri Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka) en Nayarit, México. **Acta zoológica mexicana**, v. 28, n. 3, p. 625-629, 2012.

<https://doi.org/10.21829/azm.2012.283866>

ROHRMANN, G. F. et al. Genetic relatedness of two nucleopolyhedrosis viruses pathogenic for *Orgyia pseudotsugata*. **Virology**, v. 84, n. 1, p. 213-217, 1978.

[https://doi.org/10.1016/0042-6822\(78\)90237-4](https://doi.org/10.1016/0042-6822(78)90237-4)

ROHRMANN, G. F.; BEAUDREAU, G. S. Characterization of DNA from polyhedral inclusion bodies of the nucleopolyhedrosis single-rod virus pathogenic for *Orgyia pseudotsugata*. **Virology**, v. 83, n. 2, p. 474-478, 1977.

[https://doi.org/10.1016/0042-6822\(77\)90198-2](https://doi.org/10.1016/0042-6822(77)90198-2)

SANTO MERGULHÃO, Adália Cavalcanti do Espírito et al. Caracterização filogenética de isolados de *Beauveria bassiana* originados de diferentes insetos hospedeiros. *Pesquisa Agropecuária Pernambucana*, v. 19, n. 1, p. 53-57, 2014.

<https://doi.org/10.12661/pap.2014.008>

SANTOS, T. T.; CAZETTA, M. L. Formigas da tribo Attini e sua interação com micro-organismos. **Revista Científica da FHO|UNIARARAS**, v. 4, n. 1, p. 36-44, 2016.

SCHOCH, C. L. et al. NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. **Database (Oxford)**. 2020.

<https://doi.org/10.1093/database/baaa062>

SCHULTZ, T. R.; MCGLYNN, T. P. **The interactions of ants with other organisms**. Washington: Smithsonian Institution Press, 2000.

SELVASUNDARAM, R.; MURALEEDHARAN, N. Occurrence of the entomogenous fungus *Beauveria bassiana* on the shot hole borer of tea. **Journal of Plantation Crops**, v. 28, n. 3, p. 229-230, 2000.

SHAPIRO-ILAN, David I. et al. Definitions of pathogenicity and virulence in invertebrate pathology. **Journal of invertebrate pathology**, v. 88, n. 1, p. 1-7, 2005.

<https://doi.org/10.1016/j.jip.2004.10.003>

SILVA, A.B da; BRITO, J.M de. Controle biológico de insetos-pragas e suas perspectivas para o futuro. **Agropecuária Técnica**, v. 36, n. 1, p. 248-258, 2015.

SILVA, E.J.E; LOECK, A. E. Guia de reconhecimento das formigas domiciliares do Rio Grande do Sul. **Pelotas: Universidade Federal de Pelotas**, 2006.

SIMONATO, Juliana; GRIGOLLI, José Fernando Jurca; DE OLIVEIRA, Harley Nonato. Controle biológico de insetos-praga na soja. **Embrapa Agropecuária Oeste-Capítulo em livro científico (ALICE)**, 2014.

SMITH, Harry Scott. On some phases of insect control by the biological method. **Journal of Economic Entomology**, v. 12, n. 4, p. 288-292, 1919.

<https://doi.org/10.1093/jee/12.4.288>

SOUSA, Maria Josilene de Oliveira. O. Subprodutos orgânicos no controle de Nematoides de galhas em Tomateiro. 2022. 62 f. **Dissertação** (Horticultura Tropical) - Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar. Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, Paraíba, Brasil, 2022.

STEINKRAUS, Donald C. Documentation of naturally occurring pathogens and their impact in agroecosystems. In: **Field manual of techniques in invertebrate pathology**. Springer, Dordrecht, p. 267-281, 2007.

[https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5933-9\\_12](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5933-9_12)

STEINHAUS, D. C., HOLLINGSWORTH, R. G.; SLAYMAKER, P. H. Prevalence of *Neozygites fresenii* (Entomophthorales: Neozygitaceae) on Cotton Aphids (Homoptera: Aphididae) in Arkansas Cotton. **Environmental Entomology**, v. 24, n. 2, p. 465-474, 1995.

<https://doi.org/10.1093/ee/24.2.465>

STOCKDALE, H. Microbial insecticides. In: Moo–Young, M. (Ed.) *Comprehensive biotechnology, the principles, applications and regulations of biotechnology in industry, agriculture and medicine. The practice of biotechnology.* Pergamon Press. 1992.

SUJII, E. R.; PIRES, C. S. S.; VENZON, M.; FERNANDES, O. A. Controle de artrópodes-praga com insetos predadores. pp.113-140. In: FONTES, E. M. G. VALADARES-INGLIS, M. C. (Eds.). **Controle biológico de pragas da agricultura.** Brasília: Embrapa, 510p, 2020.

TAMAYO-MEJÍA, F. et al. Efficacy of entomopathogenic fungi (Hypocreales) for *Bactericera cockerelli* (Sulc.) (Hemiptera: Trioziidae) control in the laboratory and field. **Southwestern Entomologist**, v. 39, n. 2, p. 271-283, 2014.  
<https://doi.org/10.3958/059.039.0205>

THAKUR, Neelam et al. Microbial biopesticides: current status and advancement for sustainable agriculture and environment. In: **New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering.** Elsevier, 2020. p. 243-282.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820526-6.00016-6>

UNIFEOB. (2020) **A importância do Beauveria bassiana no manejo de praga.** Disponível em: <https://unifeob.edu.br/2020/08/11/aimportanciadobeauveria/> Acesso em: 18 out. 2022.

VALADARES-INGLIS, M.C., LOPES, R.B., FARIA, M.R. Controles de artrópodes-praga com fungos entomopatogênicos. In Fontes, E. M.G., Valadares-Inglis, M.C (eds), **Brasília**, DF: Embrapa, 201-236, 2020.

VAN LENTEREN, Joop C. et al. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. **BioControl**, v. 63, n. 1, p. 39-59, 2018.  
<https://doi.org/10.1007/s10526-017-9801-4>

VAN LENTEREN, Joop C. The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. **BioControl**, v. 57, n. 1, p. 1-20, 2012.

<https://doi.org/10.1007/s10526-011-9395-1>

VERMA, Priyanka et al. Beneficial plant-microbes interactions: biodiversity of microbes from diverse extreme environments and its impact for crop improvement. In: **Plant-microbe interactions in agro-ecological perspectives**. Springer, Singapore, 2017. p. 543-580.

[https://doi.org/10.1007/978-981-10-6593-4\\_22](https://doi.org/10.1007/978-981-10-6593-4_22)

VUILLEMIN, P. M. *Beauveria*, novo gênero de Verticilliacées. **Bulletin de la Société Botanique de France** 29: 34–40, 1912.

<https://doi.org/10.1080/00378941.1912.10832379>

WAAGE, J. K.; GREATHEAD, D. J. Biological control: challenges and opportunities.

**Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences**, v. 318, n. 1189, p. 111-128, 1988.

<https://doi.org/10.1098/rstb.1988.0001>

ZHOU, Qi et al. Comparative roles of three adhesin genes (*adh1–3*) in insect-pathogenic lifecycle of *Beauveria bassiana*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 105, n. 13, p. 5491-5502, 2021.

<https://doi.org/10.1007/s00253-021-11420-w>