

## CAPÍTULO 7

# Controle de artrópodes-praga com fungos entomopatogênicos

Maria Cleria Valadares-Inglis

Rogério Biaggioni Lopes

Marcos Rodrigues de Faria

Os fungos entomopatogênicos são espécies capazes de causar doenças ou a morte de insetos. Em uma definição mais abrangente, considera-se que os fungos entomopatogênicos também infectam outros artrópodes, como aqueles da classe Arachnida (ácaros, carrapatos e aranhas). Há também os fungos que estabelecem relações neutras ou mesmo positivas com artrópodes, os quais são denominados, juntamente com os entomopatogênicos, como fungos de invertebrados.

No presente capítulo, será apresentada uma revisão atualizada sobre fungos com potencial de uso no controle de artrópodes-praga, suas características biológicas e ecológicas, classificação taxonômica e nomenclatura, os mecanismos de ação e comportamento, as vantagens e limitações e alguns exemplos de programas de controle biológico com o uso de fungos.

## CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS E ECOLÓGICAS

O conhecimento sobre as doenças que atacam insetos não é recente. Séculos atrás, egípcios e chineses já observavam e mitigavam algumas das doenças de insetos em criações de abelhas e bicho-da-seda. Contudo, em 1835, o italiano Agostino

Bassi relatou pela primeira vez o caso de um microrganismo como agente causal de doença em insetos. Seus estudos, que demonstraram a natureza infecciosa e a transmissão de um patógeno entre larvas do bicho-da-seda, foram feitos com um fungo, mais tarde denominado *Beauveria bassiana*. Alguns anos depois, entre 1878 e 1888, os russos Metchnikoff e Klassiltchik foram os primeiros cientistas a sugerir a aplicação do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* como agente de controle microbiano de pragas. A partir de então, entre as mais de 700 espécies entomopatogênicas conhecidas, diversos fungos de invertebrados vêm sendo desenvolvidos para uso em programas de controle de pragas.

Os fungos são organismos eucarióticos, cujas paredes celulares contêm quitina e/ou celulose e glucanas. São heterotróficos, mas a forma de obtenção de nutrientes é bastante variável, indo da saprotrofia (extração de nutrientes da matéria orgânica em decomposição) à associação com organismos vivos. Enquanto os fungos não filamentosos (= leveduras) são unicelulares, sem a formação de estruturas tubulares (chamadas de hifas), a maioria daqueles associados aos invertebrados crescem na forma filamentosa, ou seja, produzem hifas que, quando agrupadas, recebem a denominação de micélio. Salvo raras exceções, as células fúngicas são desprovidas de flagelos ou outras estruturas propulsoras. Consequentemente, sua dispersão é favorecida por fatores ambientais, como vento e chuva, ou por transmissão via outros agentes e organismos presentes no ambiente. Alguns fungos entomopatogênicos também podem se dispersar de maneira ativa, por ejeção de seus esporos no ar.

## Características ecológicas e interações com artrópodes

Do ponto de vista antropocêntrico, a maioria das espécies de fungos associada a artrópodes é benéfica, uma vez que tais organismos podem ser utilizados como agentes de controle de pragas. Por causa de seu peculiar modo de ação, muitos fungos são capazes de infectar invertebrados e causar sua morte em diferentes estágios de seu desenvolvimento e com os mais diversos hábitos de vida. A típica infecção do hospedeiro via tegumento permite, por exemplo, seu emprego contra fases de desenvolvimento da praga que não se alimentam, como ovos e pupas. Importantes pragas em várias culturas, como os pulgões (*Aphididae*), moscas-brancas (*Aleurodicinae*), tripses (*Terebrantia*), cochonilhas (*Dactilopidae*) e ácaros (*Acari*), apresentam aparelho bucal do tipo perfurador-sugador, o qual é introduzido em células ou tecidos de plantas hospedeiras e suga a seiva vegetal. Apesar da possibilidade de alguns microrganismos com ação endofítica atuarem contra insetos sugadores, esse tipo de alimentação reduz grandemente a possibilidade de ingestão de microrganismos que causam infecção por ingestão, como bactérias e vírus, mas não impede a colonização pelos fungos.

Cabe ressaltar que nem toda interação fungo-artrópode traz benefício ao homem. A ocorrência de doenças fúngicas em insetos úteis, como abelhas, bicho-da-seda e inimigos naturais de pragas, pode afetar diretamente a sobrevivência desses insetos e a produção de itens de interesse. Em relação aos inimigos naturais, tanto os patógenos de artrópodes quanto os predadores e parasitoides podem contribuir para a redução de populações de organismos-praga. Em um contexto de interações multitróficas, entomopatógenos e outros inimigos naturais podem interagir de forma sinérgica, aditiva ou antagônica, como no caso de parasitismo/infecção e competição. Os efeitos negativos das interações de fungos entomopatogênicos e inimigos naturais devem ser evitados, enquanto os efeitos positivos da dispersão dos entomopatógenos devem ser valorizados, uma vez que os inimigos naturais podem aumentar a dispersão dos fungos, principalmente em condições de cultivo em casas de vegetação. Por exemplo, em ensaios em casa de vegetação conduzidos por Messelink e Ingegno (2016), afídeos infectados com *M. anisopliae* não foram consumidos pelo predador *Cheilomenes lunata* (Fabricius) (Coleoptera: Coccinellidae), mesmo se ofertados como única fonte de alimento. Além disso, observou-se que *C. lunata* evitou cadáveres de afídeos com esporulação do fungo. Para patógenos, a interação positiva é ilustrada pela dispersão de esporos assexuados (conídios) do fungo para outros afídeos durante a busca de alimentos por *C. lunata* (Bayissa et al., 2016). Essa forma de dispersão inspirou uma nova estratégia de liberação de agentes de controle biológico de pragas, denominada *entomovectoring*, inicialmente descrita por Hokkanen e Menzler-Hokkanen (2007), a qual vem sendo desenvolvida para o controle de várias pragas, principalmente em cultivos protegidos. Essa tecnologia envolve o uso de diferentes espécies de insetos como vetores para a disseminação de esporos de fungos ou outros microrganismos, usualmente na forma de pó. Estudos recentes têm analisado o potencial de uso de abelhas como carreadoras de esporos, a determinação de doses, os tipos de formulações dos agentes entomopatogênicos e as alterações comportamentais dos entomovetores (Mommaerts; Smagghe, 2011; Smagghe et al., 2012, 2013; Karise et al., 2016).

## Características ecológicas e interações com o ambiente

Os fungos entomopatogênicos, exceto se devidamente formulados, requerem condições ambientais de elevada umidade relativa, temperaturas moderadas e proteção contra a radiação solar, a fim de que germinem e, conseqüentemente, causem doenças nos hospedeiros suscetíveis. As condições de microclima encontradas na superfície das plantas e nos corpos dos insetos-praga são fundamentais para o estabelecimento da infecção. Ressalta-se que regiões do corpo do inseto, como boca,

ânus e orifícios respiratórios, possuem microambiente úmido, propícios à entrada e ao início da infecção, podendo influenciar positivamente a eficiência do patógeno. A manutenção das condições de umidade após a aplicação do fungo entomopatogênico parece ser fundamental para sua eficiência. Experimentos conduzidos em laboratório por Mukawa et al. (2011) com *B. bassiana* mostraram que, para o controle do tripses *Frankliniella occidentalis* (Pergande), a condição climática ótima deve ser mantida por até 2 dias após a aplicação de conídios.

Quando aplicados no ambiente, os fungos podem sofrer danos abióticos que comprometem sua eficiência. O principal deles é causado pela exposição à radiação UV (ultravioleta), que tem efeito na germinação de esporos, bem como na sobrevivência, reprodução, dispersão e virulência dos fungos. A sensibilidade e a tolerância de fungos entomopatogênicos à radiação UV têm sido extensivamente estudadas em *Metarhizium anisopliae*, *M. acridum*, *B. bassiana* e *Isaria fumosorosea* e apresentam grande variação mesmo entre linhagens de uma mesma espécie. Em alguns casos, mesmo a exposição por apenas 30 segundos é capaz de reduzir consideravelmente a germinação desses fungos.

Estudos moleculares têm contribuído para a identificação de proteínas presentes em conídios e no micélio, em resposta às condições de estresses abióticos. As *heat shock proteins* (HSP) e as proteínas envolvidas em reações de detoxicação e biossíntese de pigmentos encontradas em fungos entomopatogênicos estão relacionadas a respostas à tolerância a estresse ambiental (Wang et al., 2013). Além das proteínas, outros mecanismos como o acúmulo de carotenoides e outros pigmentos em conídios, bem como alguns metabólitos secundários, contribuem para a tolerância à radiação solar. Esses mecanismos são complexos e envolvem várias interações e diversos sistemas fisiológicos e moleculares relacionados à sobrevivência dos fungos. Os efeitos fisiológicos e moleculares da irradiação UV ambiental em conídios de fungos são descritos em revisão de Braga et al. (2015), que aborda as alterações da estrutura de conídios, os tipos de danos causados pela radiação em nível molecular e os mecanismos de proteção contra esses danos. A seleção de linhagens tolerantes à radiação UV pode auxiliar no desenvolvimento de biopesticidas, buscando linhagens adaptadas a regiões geográficas de acordo com a intensidade da radiação. Uma forma de proteção parcial dos conídios contra a radiação solar é feita por meio de formulações, incluindo aquelas à base de óleo puro ou emulsionável, uma vez que essas substâncias reduzem a transmitância em função da maior absorbância da radiação UV.

Nas últimas décadas, foi descrita a interação endofítica de fungos entomopatogênicos com plantas, na qual os fungos são observados colonizando raízes e outras partes das plantas, sem sintomas ou danos físicos aparentes. Linhagens de *B. bassiana* são reportadas como endofíticas em diversas culturas, como banana

(*Musa*), feijão (*Phaseolus*), cacau (*Theobroma cacao*), algodão (*Gossypium*), tomate (*Solanum lycopersicum*), mandioca (*Manihot esculenta*), sorgo (*Sorghum*), arroz (*Oryza sativa*), cebola (*Allium cepa*), milho (*Zea mays*) e café (*Coffea*). Em 2002, Hu e St. Leger, ao utilizarem linhagens de *Metarhizium robertsii* marcadas com proteína fluorescente, mostraram a habilidade desse fungo de colonizar raízes e tecidos de repolho. Estudos acerca da ocorrência e da persistência de entomopatógenos endofíticos, principalmente *Metarhizium* e *Beauveria*, têm demonstrado que a persistência decresce com a idade do inóculo do fungo e que algumas linhagens endofíticas apresentam efeito negativo sobre insetos herbívoros. Vale ressaltar que essas interações dependem do isolado e da espécie de planta hospedeira. Em alguns casos, tem sido observada a transmissão vertical do fungo, a exemplo de *B. bassiana* endofítica transmitida por sementes de *Pinus radiata*, que causa efeito negativo em insetos que se alimentam da planta (Lefort et al., 2016). Esses fungos podem apresentar outros efeitos benéficos, atuando, por exemplo, como promotores de crescimento.

## Segurança para a saúde humana e animal

Uma das grandes preocupações com relação ao uso de fungos para o controle de artrópodes-praga concentra-se na capacidade que eles têm de produzir toxinas que possam causar danos aos mamíferos. Destruxinas, efraeptinas, oosporinas e outros peptídeos tóxicos são conhecidos como metabólitos produzidos por fungos, como *M. anisopliae*, *Tolypocladium* spp., *Beauveria brongniartii* e *B. bassiana*. Existe grande variação entre as espécies produtoras de metabólitos tóxicos, e as toxinas produzidas in vivo são geralmente em quantidades muito inferiores às obtidas quando esses organismos são produzidos em meio artificial (Strasser et al., 2000). Outro fator relevante é o fato de os micopesticidas utilizarem estruturas fúngicas, como conídios e blastósporos formulados sem o meio de cultura, normalmente como pós-molháveis ou misturados com óleos. A presença desses metabólitos em micoinseticidas comerciais não deve ser considerada como risco para a saúde humana e animal, uma vez que seus níveis não são altos o suficiente para causarem danos ao ambiente e aos humanos. Por sua vez, são necessários estudos adicionais para situações que envolvam a produção de preparações fúngicas nas propriedades rurais, em que o meio de cultura líquido colonizado por estruturas do patógeno seja também aplicado nas lavouras.

Os fungos entomopatogênicos não atacam plantas e, raramente, são encontrados relatos de ataques a mamíferos ou outros vertebrados. Recentemente, Nourisson et al. (2017) revisaram 19 casos de infecções humanas causadas por fungos do gênero *Metarhizium*. As infecções oculares e não oculares observadas parecem não ter correlação com imunossupressividade, mas somente pacientes imunossupressivos

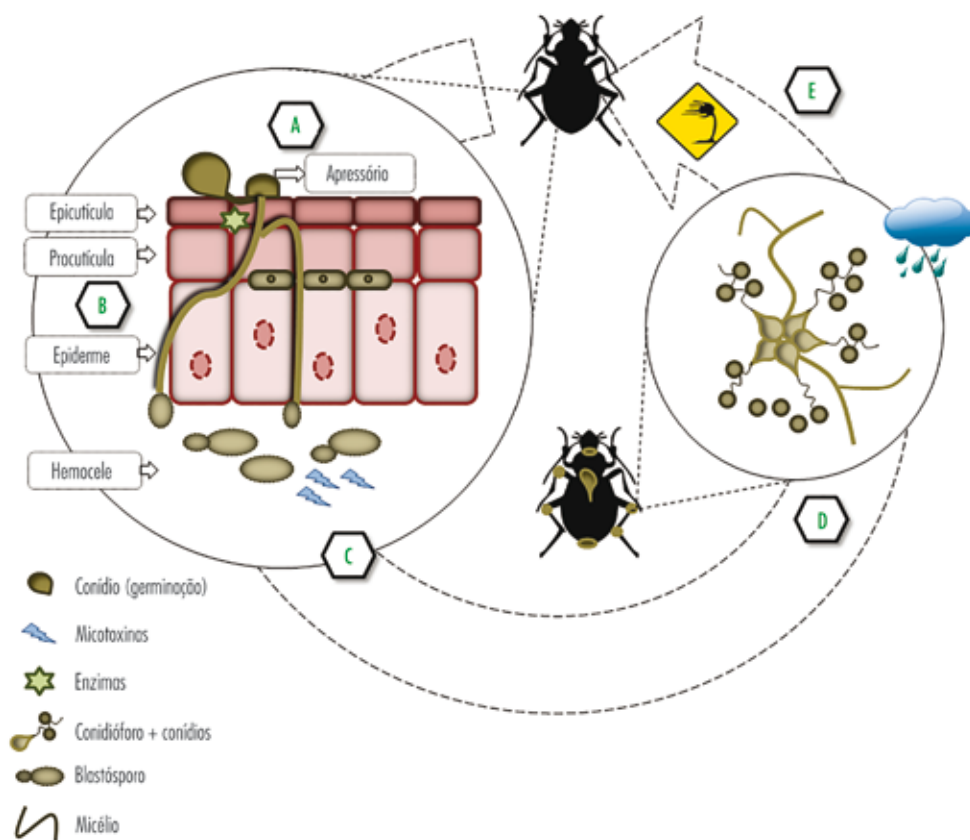
apresentaram lesões com casos comprovados de infecção. Em dez desses casos, foi possível identificar as espécies de fungos envolvidas: *M. robertsii*, *Metarhizium pingshaense*, *Metarhizium brunneum* e *Metarhizium guizhouense*. Esta última espécie contribuiu, junto com outros fatores, para a única morte registrada de um paciente imunodeficiente. As linhagens de *Metarhizium* estudadas apresentaram alta resistência aos fungicidas itraconazole e anfotericina B e baixa resistência a voriconazole. As infecções humanas com fungos entomopatogênicos são raras e a complexidade na identificação precisa de espécies e linhagens desses agentes de controle de artrópodes pode resultar em diagnósticos de infecções inespecíficas. Em coelhos, testes de toxicidade dermatológica aguda com *I. fumosorosea* não mostraram nenhum sinal de doença nesses animais, não apresentando alterações de peso e reação inflamatória na derme exposta a uma dose de 2 g/kg do animal (Brunner-Mendoza et al., 2017).

Apesar de a maioria dos fungos usados como agentes de controle biológico ser segura para seres humanos, o aumento da exposição de trabalhadores em biofábricas e operários rurais pode afetar seu sistema imune. Algumas reações alérgicas estão relacionadas a agentes de biocontrole dos gêneros *Beauveria* (Westwood et al., 2005, 2006), *Metarhizium* (Ward et al., 2011) e *Isaria* (Beezhold et al., 2008), sendo diretamente ligadas à produção de imunoglobulina E. As respostas e os sintomas da exposição a diferentes espécies de fungos ainda não são claros e parecem estar relacionados a condições preexistentes de ataques asmáticos (Baxi et al., 2016), condições essas não restritas ou relacionadas diretamente aos fungos entomopatogênicos.

O incremento na produção de fungos e o aumento da oferta de biopesticidas têm levado as agências reguladoras a estabelecer protocolos de segurança para o registro de produtos comerciais. De modo geral, os produtos comerciais precisam fornecer as seguintes informações: identificação do agente, descrição das propriedades biológicas (histórico, ocorrência natural e distribuição geográfica, espectro de hospedeiros, modo de ação, produção de metabólitos/toxinas, efeito no ambiente); conhecimento sobre o destino e o comportamento no ambiente (mobilidade e persistência no ar, água e solo); efeitos sobre organismos não alvo (microrganismos, plantas, organismos do solo, aquáticos, predadores, parasitoides, abelhas, etc.); efeitos sobre vertebrados (peixes, anfíbios, répteis e pássaros); e efeitos sobre mamíferos e sobre a saúde humana (alergia, patogenicidade/toxicidade) (Zimmermann, 2007). A legislação ligada ao registro de biopesticidas e as exigências quanto à sua toxicidade e periculosidade ambiental variam entre os diferentes países. No Brasil, o registro de biopesticidas é regulado pela Lei nº 7.802, de julho de 1989 (Brasil, 1989), pelo Decreto nº 4.074, de janeiro de 2002 (Brasil, 2002), e por suas normas infralegais, incluindo muitos dos aspectos mencionados anteriormente.

## MECANISMOS DE AÇÃO

Ao contrário do que ocorre com outros microrganismos que precisam ser ingeridos, o processo de infecção por fungos entomopatogênicos se dá por contato. Inicia-se com a adesão de estruturas fúngicas à superfície do hospedeiro suscetível, seguida por germinação, penetração e colonização interna (Figura 1).



**Figura 1.** Colonização de hospedeiro por ascomiceto com ciclo de vida assexuado: adesão e germinação (A); penetração (B); colonização (C); reprodução (D); e disseminação (E).

Ilustração: Rogerio Biaggioni Lopes

## Adesão e penetração

A ação dos propágulos infectivos é um processo dinâmico que envolve interações eletrostáticas e hidrofóbicas. Conídios de muitas espécies da ordem Hypocreales, como *B. bassiana* e *M. anisopliae*, possuem uma camada de revestimento formada por proteínas denominadas hidrofobinas. Duas delas (Hyd1 e Hyd2), encontradas

em *B. bassiana*, são responsáveis pela hidrofobicidade da parede celular, contribuindo para adesão e virulência. Além das hidrofobinas, as adesinas são conhecidas como importantes proteínas envolvidas no processo de adesão à cutícula dos insetos. Em *M. anisopliae*, pelo menos uma das adesinas (Mad1) foi identificada (Wang; St. Leger, 2007). Em alguns casos, a capacidade de adesão de conídios à cutícula parece estar relacionada ao tipo e ao tamanho das cadeias de hidrocarbonos presentes nela. Substâncias mucilaginosas produzidas na formação dos conídios podem ser determinantes no processo de adesão deles à superfície do hospedeiro, como no caso de *Lecanicillium* e *Hirsutella*.

A germinação e o crescimento do fungo na superfície e a subsequente penetração dependem das condições ambientais favoráveis, da especificidade de hospedeiro, do elevado vigor dos propágulos fúngicos, entre outros fatores. Conídios debilitados, caracterizados por lenta germinação, são menos virulentos que os conídios vigorosos (Faria et al., 2015).

Após a germinação, a penetração do fungo na cutícula de insetos ocorre preferencialmente nas regiões cuticulares menos esclerotizadas, como é o caso das regiões intersegmentares. Em alguns casos, a pressão mecânica envolve a formação de estruturas especializadas denominadas apressórios, os quais são formados a partir dos tubos germinativos. A estrutura penetrante entra diretamente na cutícula, formando estruturas fusiformes denominadas hifas, que se estendem lateralmente entre as camadas da endocutícula.

O processo de penetração é complexo, uma vez que as cutículas são estruturas altamente heterogêneas, que variam em composição de acordo com a espécie e ao longo dos diferentes estágios de desenvolvimento dos insetos, bem como com o tipo de dieta que eles têm, entre outros fatores. A epicutícula, camada mais superficial, é rica em lipídios, tornando-se uma barreira hidrofóbica para a penetração do fungo. A procutícula, camada inferior à epicutícula, é rica em quitina e proteínas esclerotizadas, constituindo barreira adicional à penetração. A camada epidermal reveste as estruturas internas dos insetos.

Inúmeros estudos vêm sendo conduzidos para elucidar o complexo enzimático produzido por fungos e seus mecanismos de ação em diferentes espécies de insetos. Assim, além das estruturas penetrantes desenvolvidas, os fungos produzem e secretam enzimas catabólicas e extracelulares que parecem estar envolvidas no processo de infecção. Endoproteases, quitinases, lipases, celulases,  $\beta$ -galactosidades, peptidases e outras enzimas são relatadas em diversos fungos, como *M. anisopliae*, *B. bassiana*, *Isaria* sp. e espécies de Entomophthorales. Essas enzimas são responsá-



veis pela degradação da cutícula do inseto e ajudam no processo de penetração por pressão mecânica.

Uma vez que a epicutícula de insetos é composta de misturas de lipídios, alcanos de cadeias longas, ésteres e ácidos graxos, as lipases atuam por meio da hidrólise das ligações ésteres das lipoproteínas, gorduras e ceras. As lipases atuam na primeira etapa, ou seja, na adesão dos propágulos à cutícula e na penetração da epicutícula, uma vez que a quebra dos lipídios ocorre concomitantemente com a penetração. As enzimas lipolíticas potencializam a adesão dos esporos às cutículas dos hospedeiros por meio da liberação de ácidos graxos que aumentam a hidrofobicidade e favorecem a adesão (Ali et al., 2010). O complexo de enzimas lipolíticas é amplo e as enzimas estão envolvidas em diferentes reações, o que torna difícil o mapeamento e a interpretação precisa do sistema enzima-artrópode. Mais recentemente, com o uso de ferramentas moleculares, como o sequenciamento genômico de cDNA, tem sido possível melhorar a identificação dos sistemas e das famílias de lipases produzidas por fungos entomopatogênicos.

Proteínas são componentes das cutículas de insetos, e as proteases são importantes no processo de penetração. Estas últimas fazem parte de um grande grupo de enzimas hidrolíticas capazes de degradar as ligações peptídicas, resultando em pequenos peptídeos e/ou aminoácidos. Os fungos entomopatogênicos produzem grande variedade de proteases, tais como: subtilisina Pr1 serina-protease, protease extracelular BBP, tripsina do tipo Pr2 serina-protease, cisteína-endoprotease, metalo-proteinase, carboxipeptidase, esterase, aminopeptidase e prolil-dipeptidil peptidase. Estudos envolvendo a produção e os mecanismos de ação dessas proteases são fundamentais para a compreensão das interações entre os fungos e seus hospedeiros. De modo geral, essas enzimas são produzidas em condições de privação de nutrientes e reprimidas quando há excesso, sendo também inibidas por condições ambientais, principalmente relacionadas aos níveis de pH (St. Leger et al., 1992). Recentemente, Javar et al. (2015) utilizaram PCR quantitativo em tempo real e identificaram genes de *M. anisopliae* expressos durante o processo de infecção da lagarta *Spodoptera xigua* (Hübner). Esse trabalho permitiu mostrar que o gene *Pr1* (subtilisin-like protease) começa a ser expresso após 2 horas de infecção, aumentando os níveis de expressão subsequentemente.

A cutícula dos insetos e ácaros contém quitina, que é um polímero de cadeia longa, constituído de resíduos de N-acetilglucosamina. O tamanho da cadeia pode variar entre organismos, e, em muitos casos, a quitina está associada a matrizes de carbonato de cálcio, fosfatos e proteínas. Esse processo leva em média de 3 a 14 dias após a infecção, dependendo de fatores como espécie de fungo e hospedeiro e dosagem do patógeno. Além de estar presente na cutícula dos artrópodes, a quitina

é parte componente da membrana ou matriz peritrófica do intestino médio dos hospedeiros, sendo formada basicamente por fibras de quitina e proteínas. A matriz peritrófica é essencial para a sobrevivência, protegendo contra infecções orais por vários organismos patogênicos, entre os quais estão os nucleopoliedrovírus e as toxinas de *Bacillus thuringiensis*. A degradação por fungos da quitina na cutícula ocorre pela ação sinérgica e consecutiva de um complexo enzimático que hidrolisa a quitina em monômeros de N-acetilglucosamina.

As enzimas que digerem quitina (quitinases, endoquitinases, exoquitinases e quitobiasas) são encontradas em fungos entomopatogênicos. Visto que a quitina constitui um componente da parede celular de fungos, incluindo os entomopatogênicos, o complexo de quitinases apresenta funções diversas, tanto na degradação da parede celular dos fungos quanto da cutícula dos hospedeiros. Duo-Chuan (2006) apresenta uma revisão de quitinases produzidas por fungos, incluindo nomenclatura, ensaios, purificação, caracterização, clonagem, expressão, famílias e estruturas, bem como genes e mecanismos de regulação. Técnicas moleculares vêm sendo empregadas para a obtenção de linhagens recombinantes, a fim de reduzir o tempo de mortalidade dos insetos e permitir a compreensão das funções do complexo enzimático no processo de penetração e colonização de hospedeiros (Sánchez-Pérez et al., 2014). Essas técnicas, associadas ao sequenciamento genômico e às análises de transcriptoma, têm permitido avanços no conhecimento das enzimas expressas no processo infeccioso. Javar et al. (2015), por exemplo, utilizaram técnicas de PCR quantitativo em tempo real e detectaram dois tipos de quitinases (CHI2 e CHI3) 12 horas após a infecção e durante a emergência do micélio após a morte do hospedeiro.

Algumas outras enzimas são produzidas por fungos entomopatogênicos, entre as quais se destacam as espécies reativas ao oxigênio (ROS – do inglês *reactive oxygen species*), que estão envolvidas na proteção de conídios no ambiente, atuando como resposta à radiação ultravioleta e ao calor, e as catalases e peroxidases, que também estão envolvidas nos mecanismos de proteção dos conídios e na proteção contra produtos citotóxicos dos hospedeiros.

## Colonização de artrópodes e metabólitos tóxicos

Uma vez dentro dos insetos ou ácaros, os fungos passam da fase de hifas para corpos hifais (= blastósporos), disseminando-se na cavidade interna do corpo por meio da hemolinfa. Posteriormente, após extensiva replicação, o fungo retorna à fase de hifas e invade tecidos musculares, corpos gordurosos, tubos de Malpighi, entre outros órgãos. Após a exaustão de nutrientes e morte do hospedeiro, as hifas penetram a cutícula do interior para o exterior, emergindo na superfície corporal

externa e, sob condições ambientais favoráveis, iniciam a última fase do ciclo de vida do fungo (reprodução) com a formação de esporos.

Muitos fungos produzem metabólitos tóxicos com efeito sobre artrópodes. Esses metabólitos são conhecidos como peptídeos não ribossomais (NRP – do inglês *nonribosomal peptides*), policéticos, derivados de lisina, terpenoides e esteróis. Os principais NRP são os seguintes: destruxinas, efraeptinas, beauvericina, bassianolides e ciclosporinas. As destruxinas A e B, que são estruturas cíclicas compostas de alfa-hidroxiácido e cinco resíduos de aminoácidos, foram identificadas em 1960, em isolados do gênero *Metarhizium*. Desde então, mais de 38 destruxinas foram relatadas (Kleinkauf; Döhren, 1987, 1990; Gupta et al., 1989, 1991; Turner, 2000). Diversas variantes das destruxinas estão documentadas, das quais três (A, B e E) são reportadas como responsáveis pela paralisia muscular aguda em insetos. Meng et al. (2013) demonstraram que essas toxinas causam efeitos nos canais de cálcio das membranas celulares, na inibição da atividade de ATPase vacuolar, na alteração da regulação do estresse oxidativo, além de efeito deletério na expressão de proteínas do disco das asas causando desenvolvimento anormal.

As efraeptinas constituem um complexo de peptídeos tóxicos e foram inicialmente descritas por Gupta et al. (1992) no fungo *Tolypocladium* spp. Apresentam atividade inibitória de ATPases, regulam o gradiente de prótons no intestino médio de insetos e afetam seu sistema imune.

Inicialmente isolada de *B. bassiana* e *Lecanicillium* sp. por Suzuki et al. (1977), a beauvericina é parte do grupo dos ciclodepsipeptídeos. Atua no equilíbrio iônico e no pH das camadas de lipídios, resultando em danos à membrana celular dos hospedeiros. A toxina bassianolide, um octadepsipeptídeo também isolado de *B. bassiana* e *Lecanicillium* sp. por Suzuki et al. (1977), possui estrutura semelhante à beauvericina e é conhecida por induzir atonia muscular aguda em insetos, estando, portanto, associada à virulência. O bassianolide é encontrado comercialmente como produto químico com atividade inseticida e nematicida, que atua nos canais iônicos da junção neuromuscular, apesar de os mecanismos de ação dos bassianolides ainda não serem completamente conhecidos.

Inicialmente isoladas do fungo entomopatogênico *T. inflatum* na década de 1970, as ciclosporinas constituem outro grupo de NRP. Esse peptídeo atua como imunossupressor, sendo amplamente utilizado na indústria médica em tratamento de pacientes transplantados. Estudos recentes mostram a existência de outros mecanismos de ação, incluindo a redução da atividade de peptídeos antimicrobianos (Bushley et al., 2013).

Entre os peptídeos tóxicos policéticos, estão descritas a oosporina e a bassiani-na, ambas isoladas de *B. bassiana*. Esses peptídeos foram estudados por Vining et al. (1962), McInnes et al. (1974) e Strasser et al. (2000). A oosporina atua como inibidor do sistema de defesa dos insetos e a bassianina inibe as atividades de ATPases.

Além das toxinas mencionadas, podem ainda ser encontrados os peptídeos tóxicos derivados de lisina, como o *swainsonine*, que tem sido bastante estudado em *M. anisopliae*, e o ácido dipicolínico, encontrado em *Beauveria*, *Isaria* e *Lecanicillium*. Terpenoides e esteroides são observados em fungos entomopatogênicos, incluindo os terpenoides de *Aschersonia paraphysata* com potencial de controlar a malária (Isaka et al., 2010). Outros metabólitos, como tolipina, dicetopiperazinas, hirsuteline A e B, ergosterol peroxidase e torrubiellina B, foram também descritos em fungos entomopatogênicos, muitos dos quais são utilizados comercialmente (Singh et al., 2016).

O potencial de uso de fungos entomopatogênicos, tanto como biopesticidas quanto como fornecedores de metabólitos de interesse para a indústria médico-farmacêutica, ainda tem vasto campo a ser explorado.

## Mecanismos de defesa de insetos e ácaros

Os mecanismos de defesa dos artrópodes contra infecções por microrganismos patogênicos são complexos e parecem envolver processos evolutivos com adaptação comportamental, produção e secreção de compostos capazes de inibir o crescimento e o desenvolvimento dos patógenos, bem como a capacidade de mudar a cutícula durante o desenvolvimento. Por sua vez, a pressão de seleção é recíproca, havendo a seleção de linhagens mais virulentas, capazes de superar as barreiras dos hospedeiros e as defesas internas.

As cutículas dos artrópodes são barreiras físicas e químicas contra infecções causadas por microrganismos. Na infecção causada pelos fungos, a adesão e a penetração da cutícula pelo patógeno são fundamentais para o processo. Essa etapa pode ser inibida por meio da melanização da cutícula, que é ativada pelas  $\beta$ -1,3-glucanas presentes na parede celular de fungos. As  $\beta$ -1,3-glucanas ativam as profenoloxidasas (enzimas que catalisam a oxidação de fenóis, resultando em melanina) dos insetos, e alguns fungos entomopatogênicos parecem possuir a capacidade de suprimir ou inativar a defesa celular dos insetos suscetíveis. O sistema imunológico de artrópodes da classe Arachnida, que inclui ácaros, carrapatos e aranhas, é menos estudado. Sabe-se que alguns carrapatos não possuem o sistema de profenoloxidase que resulte em melanização.

Ácidos graxos, componentes das cutículas de insetos, principalmente os poli-insaturados, apresentam forte atividade antifúngica, e a atividade antimicrobiana parece

dependem do tamanho da cadeia e da presença de ligações insaturadas. Apesar de ocorrerem em baixas concentrações, os ácidos graxos apresentam atividade contra fungos. A combinação de ácidos graxos saturados de cadeia longa, abundantes na cutícula e nos extratos internos da mosca *Sarcophaga carnaria*, com ácidos graxos poli-insaturados está envolvida na proteção contra infecção causada por fungos (Gołębiowski et al., 2014). A quantidade de ácidos graxos varia (de traços a 44% dos componentes da cutícula) entre diferentes espécies, e essas diferenças estão relacionadas à resistência e à suscetibilidade dos insetos a patógenos (Gołębiowski et al., 2008).

Alguns insetos secretam substâncias químicas, entre as quais estão alguns aldeídos, que atuam como feromônios e/ou cariomônios e agem na atração de pares ou na atração de parasitoides, no caso dos cariomônios. Algumas das substâncias químicas encontradas nos feromônios de insetos apresentam efeito fungistático, que inibe fungos entomopatogênicos (Borges et al., 1993, Sosa-Gomez et al., 1997; Lopes et al., 2015; Ulrich et al., 2015).

Outros mecanismos de defesa dos insetos envolvem a secreção de lactona B, um éster cíclico que é responsável pela inibição da atividade lipolítica do fungo, impedindo o processo infeccioso. Em alguns insetos, os lipídios cuticulares apresentam efeito tóxico e inibitório de germinação de conídios, como, por exemplo, os lipídios de mosca-branca, que inibem a germinação de *B. bassiana* (James et al., 2003), e as longas cadeias de ácidos graxos, que inibem *I. fumosorosea* e *B. bassiana*. Outros compostos também previnem a infecção, como os ácidos amídicos presentes em cutícula do psocoptero *Liposcelis bostrychophila* Badonnel, que atuam na prevenção à adesão de conídios de *B. bassiana*, *I. fumosorosea*, *Aspergillus parasiticus* e *M. anisopliae* (Lord; Howard, 2004).

Após atravessar a barreira cuticular dos artrópodes, os fungos são combatidos por meio de respostas celulares e humorais, que começam com o reconhecimento de moléculas e receptores, os quais são denominados de padrões moleculares associados a patógenos. Esses padrões envolvem as  $\beta$ -1,3-glucanas da parede celular do fungo, que são reconhecidas durante a penetração e, posteriormente, quando o patógeno atinge a cavidade interna do hospedeiro. Essa barreira de reconhecimento pode ser evitada pelo fungo pela perda da parede celular, quando o fungo cresce na hemocele do hospedeiro na forma de corpos hifais ou protoplastos. Os protoplastos de fungos sobrevivem na hemolinfa dos insetos e, embora possam persistir, geralmente não são capazes de se desenvolver e causar infecções (Lastra et al., 2001). Artrópodes infectados podem apresentar mudanças na composição de lipídios na hemolinfa, com acúmulo de solutos e aumento da pressão osmótica. Estudos envolvendo expressão de genes mostraram que a proteína colagenosa é altamente expressa em insetos infectados. A proteína MCL1 (semelhante ao colágeno) parece funcionar como uma camada pro-

tetora antiadesiva, que evitaria a fagocitose e a encapsulação das estruturas do fungo, cuja carga negativa evitaria a atração de hemócitos, mascarando as  $\beta$ -1,3-glucanas da parede celular dos fungos (Wang; St. Leger, 2006).

Algumas espécies de artrópodes eliminam os patógenos ou atrasam a progressão da doença através de febre comportamental, quando a maior exposição à radiação solar funciona como um mecanismo de termorregulação e de inativação microbiana pela irradiação UV, limitando ou mesmo inibindo o crescimento de patógenos presentes na cutícula. A ocorrência de febres em insetos infectados por organismos entomopatogênicos já foi observada, por exemplo, em gafanhotos e coleópteros infectados com *Metarhizium* e na mosca doméstica infectada com *Entomophthora muscae*. A febre comportamental pode induzir mudanças comportamentais como busca por locais mais altos (Roy et al., 2006).

Insetos sociais apresentam comportamentos específicos de resposta a contaminações. Limpezas pelos companheiros de ninho ou limpeza própria minimizam os danos causados por microrganismos patogênicos. Os cupins apresentam comportamento de limpeza mútua para eliminação de esporos de fungos, como *B. bassiana* e *M. anisopliae* (Shimizu; Yamaji, 2003; Yanagawa et al., 2008), e apresentam também resposta a compostos voláteis produzidos pelos organismos patogênicos detectados pelas antenas (Yanagawa et al., 2009, 2012).

## CLASSIFICAÇÃO TAXONÔMICA E NOMENCLATURA

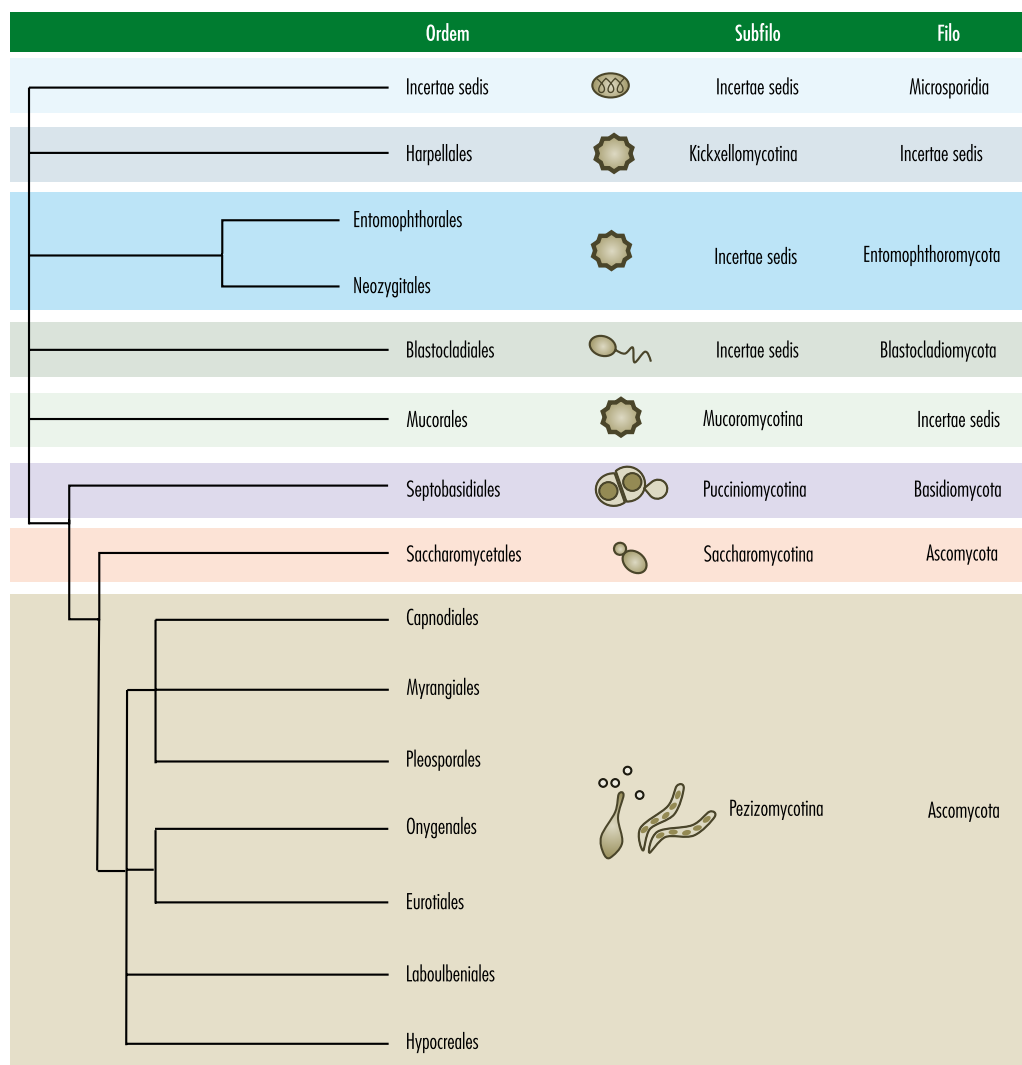
Até o final do século passado, o reconhecimento de espécies fúngicas baseava-se preponderantemente em características morfológicas, e as observações a olho nu e microscópicas eram suficientes para a identificação. Caracteres como cor de colônias, tamanho e forma dos conídios e características das estruturas que dão suporte aos conídios (conidióforos ou células conidiogênicas) eram as mais empregadas nessa abordagem, embora informações sobre hospedeiro e biogeografia fossem relevantes em muitos casos. Na última edição do consagrado livro *Controle Microbiano de Insetos* (Alves, 1998), por exemplo, o grupo de fungos entomopatogênicos que incluía a maioria das espécies de uso comercial era chamado de Deuteromicetos, assim agrupados pela inexistência ou desconhecimento de uma fase sexuada. Nos últimos anos, estudos que demonstravam as relações evolutivas entre os fungos com base em análises filogenéticas (representações gráficas que mostram as relações evolutivas entre as espécies consideradas) passaram a ter grande importância. Essas análises consideram que as espécies evoluem de um ancestral comum, portanto as espécies mais próximas apresentam mais características em comum do que aquelas mais distantes.

As análises filogenéticas de fungos têm focado principalmente no sequenciamento de regiões informativas do genoma, chamadas de marcadores moleculares. Já no ano 2000, pesquisadores australianos propuseram uma profunda revisão de parte do gênero *Metarhizium* após a realização de estudo que envolveu o sequenciamento da região ITS e o uso de Random Amplification of Polymorphic DNA (RAPD). Em anos recentes, outras abordagens moleculares, como amplified fragment length polymorphism (AFLP), sequenciamento de genoma total ou, mais comumente, sequenciamento de regiões específicas do genoma, têm levado a avanços nas propostas filogenéticas para diversos gêneros de fungos entomopatogênicos, sobretudo *Metarhizium* e *Beauveria*. Os estudos demonstraram que ambos os gêneros são, na realidade, complexos de espécies (ver a seção intitulada Principais Espécies Usadas no Controle Biológico Aplicado). Nos dois casos, a identificação das espécies dentro de cada complexo já não é mais possível com a adoção de caracteres morfológicos, mas passou a depender de técnicas de sequenciamento genético e da construção de árvores filogenéticas.

A abordagem filogenética não se restringiu apenas aos gêneros mencionados, já que estudos com *Lecanicillium* (anteriormente *Verticillium lecanii*) e *Isaria* (agrupamento composto de diversas espécies entomopatogênicas anteriormente classificadas no gênero *Paecilomyces*), entre outros, foram também realizados nesse período. Paralelamente, estudos recentes demonstraram a correlação entre a fase sexual e assexual de diversas espécies entomopatogênicas, o que comprova definitivamente que parte dos fungos antes denominados Deuteromicetos é, na realidade, membro do reino Fungi, mas esses fungos estão distribuídos em outros filos, principalmente Ascomycota (Figura 2). Apesar dos inúmeros estudos moleculares conduzidos ao longo de quase 20 anos, muitos estudos adicionais serão necessários para elucidar as relações evolutivas dos gêneros mais conhecidos e de muitos outros menos estudados. O uso de caracteres morfológicos continuará sendo muito útil, tanto para o rápido reconhecimento dos gêneros (e, em alguns casos, espécies) mais estudados, quanto para a identificação taxonômica dos táxons menos focados pelos cientistas. Cumpre ainda destacar que muitas análises filogenéticas não têm sido capazes de propor classificações satisfatórias, o que realça a importância da classificação tradicional baseada em caracteres morfológicos.

## Grupos de fungos associados a insetos e ácaros

Considerando-se o dinamismo dos estudos filogenéticos, nos próximos anos será possível presenciar uma série de alterações relevantes na classificação e identificação de fungos associados aos artrópodes. A Tabela 1 mostra a classificação atual dos grupos de fungos, os quais serão brevemente abordados a seguir.



**Figura 2.** Árvore filogenética com as principais ordens e filos de fungos associados a invertebrados.

Ilustração: Rogério Biaggioni Lopes

## Subfilo Kickxellomycotina

Kickxellomycotina foi recentemente descrito como um subfilo e engloba quatro ordens do antigo filo Zygomycota. Uma das ordens, Harpellales, contém gêneros de fungos que são endossimbiontes obrigatórios em artrópodes. Nesse táxon, destacam-se espécies da antiga classe Trichomycetes, comensais de dípteros e efemerópteros. Os gêneros *Stachylina* e *Smittium*, por exemplo, têm sido frequentemente encontrados, respectivamente, nos intestinos posterior e médio de dípteros das famílias Simuliidae e Chironomidae. Parasitismo que resulta na morte de larvas



de mosquitos foi relatado até o momento apenas para uma espécie do segundo gênero, *S. morbosum* (Lichtwardt, 2004).

### Subfilo Mucoromycotina

Da mesma forma que o subfilo anterior, o subfilo Mucoromycotina ainda não tem um filo definido e contém parte dos representantes do antigo filo Zygomycota. A ordem Mucorales engloba espécies saprófitas e algumas que parasitam plantas, fungos e animais. *Sporodiniella umbellata* é reconhecida como a única espécie do táxon capaz de infectar insetos, havendo certa especificidade por alguns membros da subordem Auchenorrhyncha, na ordem Hemiptera. Há relatos de epizootias durante períodos chuvosos em lavouras de cacau, quando cigarrinhas da família Membracidae são infectadas. A ocorrência sobre o tegumento de insetos mortos pertencentes a outros grupos demonstra que *S. umbellata* tem potencial saprofítico.

### Filo Blastocladiomycota

Membros do filo Blastocladiomycota, que englobam espécies portadoras de flagelos, são adaptados para causar infecções em alguns dípteros. Espécies do gênero *Coelomomyces*, por exemplo, convivem com dípteros aquáticos e apresentam ciclo de vida complexo, com alternância de hospedeiros, envolvendo a passagem por um microcrustáceo e duas gerações de mosquitos. A constante presença do agente infeccioso na população do hospedeiro, em alguns casos de vários anos, pode resultar na mortalidade de mais de 90% das larvas de mosquitos. Ao contrário da maioria dos fungos entomopatogênicos, cuja penetração ocorre via cutícula, membros desse gênero invadem o hospedeiro por via oral, e o sítio de infecção se dá nos intestinos anterior e posterior.

### Filo Microsporidia

Os microsporídios, até o final do século passado considerados como protozoários, atualmente são considerados um táxon do reino Fungi ou, na pior das hipóteses, são filogeneticamente próximos. São parasitas intracelulares obrigatórios de animais em geral, tanto vertebrados quanto invertebrados. Do ponto de vista entomológico, há espécies que dizimam colônias de abelhas, enquanto outras são empregadas no controle biológico de gafanhotos. No Brasil, há relato da infecção oral de *Nosema* sp. no parasitoide *Cotesia flavipes* Cameron, um importante agente de controle biológico utilizado em canaviais, o qual contrai o patógeno ao se alimentar do hospedeiro previamente infectado, a lagarta *Diatraea saccharalis* Fabricius (Simões et al., 2012).

**Tabela 1.** Classificação atual (2017) dos principais fungos associados a insetos e ácaros.

Classe	Ordem	Família	Gênero	Hospedeiro (ordem/família)	
Saccharomycetes	Saccharomycetales	Filo Ascomycota – subfilo Saccharomycotina			
		Saccharomycetaceae	<i>Candida</i>	Coleoptera (Erotylidae, Tenebrionidae, Scarabaeidae), Dictyoptera (Blattidae), Diptera (Culicidae), Neuroptera (Ascalaphidae, Corydalidae)	
		Metschnikowiaceae	<i>Metschnikowia</i>	Coleoptera (Nitidulidae), Neuroptera (Chrysopidae)	
	Capnodiales	Filo Ascomycota – subfilo Pezizomycotina			
		Capnodiaceae	<i>Cladosporium</i>	Coleoptera (Curculionidae), Hemiptera (Aleyrodidae, Aphididae, Cicadellidae, Coccidae, Pseudococcidae), Hymenoptera (Formicidae), Lepidoptera (Lycaenidae), Thysanoptera (Thripidae), Acari (Tetranychidae)	
Dothideomycetes	Myriangiales	Myriangiaceae	<i>Tripaspermum</i>	Hemiptera (Adelgidae)	
Pleosporales			<i>Myriangium</i>	Hemiptera (Adelgidae, Diaspididae)	
		Tubeufiaceae	<i>Podonectria</i>	Hemiptera (Coccidae, Diaspididae)	
		Pleosporaceae	<i>Curvularia</i>	Hemiptera (Cercopidae)	
Eurotiomycetes	Onygenales	Didymellaceae	<i>Phoma</i>	Lepidoptera (Lymantriidae)	
		Ascosphaeraceae	<i>Ascosphaera</i>	Hymenoptera (Apidae, Colletidae, Megachilidae)	
	Eurotiales	Trichocomaceae	<i>Aspergillus</i>	Vários hospedeiros, normalmente estressados	
		Laboulbeniales		<i>Cucujomyces</i>	Coleoptera (Staphylinidae)
Laboulbeniaceae			<i>Hesperomyces</i>	Coleoptera (Coccinellidae)	
			<i>Laboulbenia</i>	Diptera (Curtonotidae, Richardiidae), Coleoptera (Carabidae, Chrysomelidae, Cleridae, Erotylidae, Gyrinidae, Salpingidae, Staphylinidae)	
Laboulbeniomycetes (ectoparasitas de artrópodes)			<i>Stigmatomyces</i>	Diptera (Lauxaniidae)	

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Classe	Ordem	Família	Gênero	Hospedeiro (ordem/família)
Sordariomycetes	Hypocreales (ordem com maior número e diversidade de fungos atacando invertebrados)	Clavicipitaceae	<i>Aschersonia</i>	Hemiptera (Aleyrodidae, Coccidae, Diaspididae)
			<i>Hypocrella</i> <sup>(1)</sup>	Hemiptera (Aleyrodidae, Coccidae, Lecaniidae)
			<i>Metacordyceps</i> <sup>(1)</sup>	Coleoptera, Lepidoptera, Hemiptera (Cicadidae)
			<i>Metarhizium</i>	Enorme diversidade de hospedeiros (muitas ordens e famílias taxonômicas)
			<i>Moelleriella</i> <sup>(1)</sup>	Hemiptera (Aleyrodidae, Coccidae, Lecaniidae)
			<i>Regiocrella</i> <sup>(1)</sup>	Hemiptera (Coccidae), Lepidoptera
			<i>Samuelsia</i> <sup>(1)</sup>	Hemiptera (Aleyrodidae, Coccidae, Lecaniidae)
			<i>Torrubiella</i> <sup>(1)</sup>	Hemiptera (Coccidae, Delphacidae, Diaspididae)
			<i>Beauveria</i>	Enorme diversidade de hospedeiros (muitas ordens e famílias)
			<i>Cordyceps</i> <sup>(1)</sup>	Coleoptera (Chrysomelidae, Scarabaeidae), Lepidoptera (Cossidae, Geometridae, Tineidae)
Sordariomycetes	Hypocreales (ordem com maior número e diversidade de fungos atacando invertebrados)	Cordycipitaceae	<i>Isaria</i> <sup>(2)</sup>	Coleoptera (Buprestidae, Carabidae, Cerambycidae, Chrysomelidae, Coccinellidae, Curculionidae, Lagriidae, Meloidae, Scarabaeidae, Silphidae, Scolytidae, Staphylinidae, Tenebrionidae), Collembola, Diptera (Bibionidae, Calliphoridae, Cecidomyiidae, Culicidae, Muscidae, Simuliidae, Tachinidae, Tipulidae, Xylophagidae), Cictyoptera (Blattellidae), Hemiptera (Adeigidae, Aleyrodidae, Aphididae, Cicadidae, Coccidae, Delphacidae, Lygaeidae, Miridae, Pentatomidae, Pseudococcidae, Psyllidae, Scutelleridae), Hymenoptera (Aphelinidae, Eulophidae, Formicidae, Pamphiliidae, Tenthredinidae), Lepidoptera (Arctiidae, Bombycidae, Geometridae, Lasiocampidae, Lymantriidae, Noctuidae, Notodontidae, Nymphalidae, Plutellidae, Pyralidae, Pyralidae, Sesiidae, Tortricidae), Orthoptera (Gryllidae), Thysanoptera (Thripidae), Acari (Ixodidae)

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Classe	Ordem	Família	Gênero	Hospedeiro (ordem/família)
Sordariomycetes	Hypocreales (ordem com maior número e diversidade de fungos atacando invertebrados)	Cordycipitaceae	<i>Lecanicillium</i> <sup>(2)</sup>	Coleoptera (Buprestidae, Cerambycidae, Chrysomelidae, Elateridae, Lampyridae, Melyridae, Scolytidae, Silphidae, Staphylinidae, Tenebrionidae), Diptera (Bibionidae, Culicidae, Muscidae, Psychodidae, Simuliidae, Tipulidae, Xylophagidae), Hemiptera (Adelgidae, Aleyrodidae, Aphididae, Coccidae, Diaspididae, Eriococcidae, Lecaniidae, Margarodidae, Ortheziidae, Pentatomidae, Pseudococcidae, Scutelleridae, Tingidae), Hymenoptera (Formicidae, Ichneumonidae, Trichogrammatidae, Vespidae), Lepidoptera (Cossidae, Lymantriidae, Pyralidae, Tortricidae), Orthoptera (Gryllotalpidae), Thysanoptera (Thripidae), Acari (Tetranychidae, Tenuipalpidae)
				Coleoptera (Carabidae, Culicidae), Diptera (Muscidae), Hemiptera (Aleyrodidae, Pentatomidae, Tingidae), Orthoptera (Acrididae), Acari (Oribatidae)
				Coleoptera (Carabidae, Curculionidae), Collembola, Hemiptera (Aphididae, Cicadellidae, Cixiidae, Coccidae, Delphacidae, Derbidae, Diaspididae, Membracidae, Miridae, Psyllidae), Diptera (Itonididae, Sciomyzidae), Hymenoptera (Formicidae, Pamphiliidae), Lepidoptera (Cossidae, Hepialidae, Pyralidae, Tortricidae), Psocoptera (Ectopsocidae, Pseudocaeciliidae), Thysanoptera (Phlaeothripidae, Thripidae), Acari (Eriophyidae, Tarsonemidae, Tenuipalpidae Tetranychidae)
				Diptera (Xylophagidae), Coleoptera (Scarabaeidae), Hemiptera (Cicadidae)
		Ophiocordycipitaceae	<i>Hirsutella</i>	
			<i>Ophiocordyceps</i> <sup>(1)</sup>	

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Classe	Ordem	Família	Gênero	Hospedeiro (ordem/família)
Sordariomycetes	Hypocreales (ordem com maior número e diversidade de fungos atacando invertebrados)	Ophiocordycipitaceae	<i>Sorospora</i>	Coleoptera (Curculionidae), Orthoptera (Acrididae, Gryllotalpidae)
			<i>Syngliocladium</i>	Diptera (Ulidiidae), Orthoptera (Acrididae)
			<i>Tolypocladium</i>	Coleoptera (Elateridae, Scarabaeidae), Diptera (Anthomyiidae, Bibionidae, Culicidae, Mycetophilidae, Tachinidae), Hemiptera (Tingidae), Hymenoptera (Formicidae, Siridae), Lepidoptera (Noctuidae, Tortricidae), Thysanoptera (Thripidae), Acari (Oribatidae)
			<b>Filo Basidiomycota – subfilo Pucciniomycotina</b>	
Pucciniomycetes	Septobasidiales	Septobasidiaceae (todos os membros são parasitas obrigatórios de cochonilhas)	<i>Septobasidium</i>	Hemiptera (Coccidae, Diaspididae)
<b>Filo Entomophthoromycota – subfilo Entomophthoromycotina</b>				
Entomophthoromycetes	Entomophthorales	Entomophthoraceae (todos são patógenos obrigatórios de insetos ou ácaros)	<i>Batkoa</i>	Coleoptera (Cantharidae), Hemiptera (Aphididae, Cercopidae, Cicadellidae), Diptera (Drosophilidae, Sciaridae, Simuliidae, Tipulidae), Lepidoptera (Lasiocampidae, Noctuidae)
			<i>Entomophaga</i>	Diptera (Anthomyiidae, Calliphoridae, Chironomidae, Muscidae, Psilidae, Syrphidae, Scatophagidae), Hemiptera (Aphididae, Cicadellidae, Delphacidae, Cicadidae), Lepidoptera (Tortricidae, Noctuidae, Lasiocampidae, Geometridae, Arctidae, Notodontidae, Saturniidae, Lymantriidae), Orthoptera (Acrididae), Thysanoptera (Thripidae)

Continua..

Tabela 1. Continuação.

Classe	Ordem	Família	Gênero	Hospedeiro (ordem/família)	
Entomophthoromycetes	Entomophthorales	Entomophthoraceae (todos são patógenos obrigatórios de insetos ou ácaros)	<i>Entomophthora</i>	Diptera (Anthomyiidae, Calliphoridae, Drosophilidae, Muscidae, Sarcophagidae, Syrphidae), Hemiptera (Aleyrodidae, Aphididae)	
			<i>Erynia</i>	Diptera (Chironomidae, Culicidae, Mycetophilidae, Psychodidae, Simuliidae, Tipulidae), Trichoptera (Hydropsychidae)	
			<i>Eryniopsis</i>	Diptera (Ptychopteridae, Tipulidae)	
			<i>Furia</i>	Diptera (Empididae), Hemiptera (Cercopidae, Miridae), Lepidoptera (Lasiocampidae, Noctuidae, Pieridae)	
			<i>Massospora</i>	Hemiptera (Cicadidae)	
		<i>Pandora</i>	Diptera (Sciaridae), Coleoptera (Elateridae), Hemiptera (Aphididae, Cicadellidae, Delphacidae, Membracidae, Miridae), Lepidoptera (Arctiidae, Noctuidae, Plutellidae)		
		<i>Strongwellsea</i>	Diptera (Anthomyiidae, Calliphoridae, Muscidae, Sarcophagidae)		
		Entomophthoraceae (todos são patógenos obrigatórios de insetos ou ácaros)	<i>Zoophthora</i>	Diptera (Anthomyiidae), Coleoptera (Carabidae, Curculionidae, Elateridae), Dermaptera (Forficulidae), Hemiptera (Aphididae, Cercopidae, Cicadellidae, Miridae, Psyllidae, Thaumastocoridae), Hymenoptera (Diprionidae), Lepidoptera (Gelechiidae, Geometridae, Noctuidae, Pieridae, Plutellidae, Pyralidae, Tortricidae)	
			Ancylistaceae	<i>Conidiobolus</i>	Coleoptera (Curculionidae), Collembola, Diptera (Anthomyiidae, Culicidae, Heliomyzidae, Psilidae, Psychodidae, Sciaridae, Tipulidae), Hemiptera (Adelgidae, Aphididae, Cercopidae, Cicadellidae, Cixiidae, Delphacidae, Issidae, Membracidae), Hymenoptera (Formicidae), Isoptera (Termitidae), Lepidoptera (Noctuidae, Plutellidae, Tortricidae), Orthoptera (Acrididae), Thysanoptera (Thripidae)
				<i>Tabanomyces</i>	Diptera (Tabanidae)
Meristacraceae					

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Classe	Ordem	Família	Gênero	Hospedeiro (ordem/família)
Neozygitomycetes	Neozygiales	Neozygitaceae (todos são patógenos obrigatórios de insetos ou ácaros)	<i>Neozygites</i>	Hemiptera (Aphididae), Thysanoptera (Thripidae), Acari (Tetranychidae)
		Filó Indefinido – subfiló Kickxellomycotina		
Indefinido	Harpellales (endossimbiontes obrigatórios em artrópodes)	Lageriomycetaceae	<i>Bojamyces</i>	Ephemeroptera (Leptophlebiidae)
			<i>Smittium</i>	Diptera (Chironomidae, Simuliidae)
			<i>Tectimyces</i>	Ephemeroptera (Leptophlebiidae)
		Harpellaceae	<i>Harpella</i>	Diptera (Simuliidae)
			<i>Stachylina</i>	Diptera (Chironomidae, Simuliidae)
Filó Indefinido – subfiló Mucoromycotina				
Indefinido	Mucorales	Mucoraceae	<i>Sporodiniella</i> (S. umbellata é a única espécie entomopatogênica)	Hemiptera (Jassidae, Membracidae)
		Filó Blastocladiomycota – subfiló indefinido		
Blastocladiomycetes	Blastocladales	Coelomomycetaceae	<i>Coelomomyces</i>	Diptera (Chironomidae, Culicidae, Psychodidae, Simuliidae, Tabanidae)
			<i>Coelomycidium</i>	Diptera (Simuliidae)
Filó Microsporidia – subfiló indefinido				
Indefinido	Indefinido	Indefinido	<i>Nosema</i>	Coleoptera (Curculionidae), Hemiptera (Miridae, Plataspidae), Hymenoptera (Apidae), Lepidoptera (Bombycidae, Crambidae, Lymantriidae, Noctuidae, Tortricidae)
			<i>Paranosema</i>	Coleoptera (Tenebrionidae), Orthoptera (Acrididae, Gryllidae)
			<i>Vairimorpha</i>	Lepidoptera (Lymantriidae, Noctuidae)

(1) Gêneros teleomórficos (fase sexual).

(2) Baseado em análise multigênica, Kepler et al. (2017) recomendam a rejeição dos nomes genéricos *Isaria* e *Lecanicillium* e sua substituição por *Cordyceps* e *Akanthomyces*, respectivamente.

Fonte: Hibbett et al. (2007), Humber (2008, 2012) e Arsef Catalog (2015).

## Filo Entomophthoromycota

O atual filo Entomophthoromycota abriga inúmeros representantes do antigo filo Zygomycota. Na classe Entomophthoromycetes, a ordem Entomophthorales é bastante estudada, principalmente a família Entomophthoraceae, na qual todos os integrantes são patógenos obrigatórios de insetos ou ácaros. Curiosamente, em todo o filo apenas a espécie *Conidiobolus thromboides*, na família Ancylistaceae, atingiu status comercial como micoinseticida. Já a classe Neozygitomycetes abriga fungos do gênero *Neozygites*, composta por patógenos obrigatórios de insetos ou ácaros.

## Filo Basidiomycota

Embora numericamente enorme, poucos representantes deste filo são entomopatogênicos. Espécies dos cinco gêneros da família Septobasidiaceae são parasitas de cochonilhas, embora a grande maioria delas (aproximadamente 175) esteja inserida no gênero *Septobasidium*. A relação resulta no parasitismo de algumas cochonilhas, mas, do ponto de vista populacional, a relação é usualmente benéfica pois confere abrigo e proteção a inúmeros indivíduos por meio da estrutura micelial formada nos ramos e folhas. As cochonilhas que se mantêm sob o manto micelial ficam fisicamente protegidas do ataque de inimigos naturais.

## Filo Ascomycota

No filo Ascomycota, o subfilo Saccharomycotina é representado por espécies de leveduras. Várias espécies de *Candida* e *Geotrichum*, por exemplo, residem no intestino de besouros que se alimentam de cogumelos. Embora a relação levedura-hospedeiro não seja bem compreendida, acredita-se que as leveduras auxiliam na digestão de alimentos e, em alguns casos, na desintoxicação por alguns componentes ingeridos e, ainda, como fonte de vitaminas. A espécie leveduriforme *Symbiotaphrina kochii*, cuja filogenia dentro do filo Ascomycota permanece incompleta (indefinição de classe, ordem e família taxonômica), apresenta estreita interação com o besouro *Lasioderma serricorne*, importante praga cosmopolita da indústria fumageira, auxiliando-o na desintoxicação de componentes do fumo curado atacado pela fase larval. Normalmente, as leveduras estão presentes no intestino de insetos que ingerem material vegetal, havendo limitada associação com intestinos de insetos predadores. Centenas de espécies de leveduras, incluindo *Saccharomyces cerevisiae*, têm sido isoladas em baixa frequência, o que indica a existência de forte associação com o alimento e não com o inseto; portanto, as associações com os insetos teriam natureza transitória.



O subfilo Pezizomycotina é o que apresenta a maior diversidade de táxons associados a insetos. Embora a classe Dothideomycetes seja pouco estudada por patologistas de insetos, sua importância na regulação natural de diversos insetos não deve ser menosprezada. A classe Eurotiomycetes engloba fungos do gênero *Aspergillus*, conhecidos pela estreita associação com insetos estressados que causam, em alguns casos, elevada mortalidade em criações de lepidópteros e insetos de outras ordens. Outro representante dessa classe que tem causado vultosos prejuízos econômicos é o gênero *Ascosphaera*, com a maior parte das espécies associados a abelhas solitárias ou sociais, que atuam como saprófitas ou, mais usualmente, patógenos. *Ascosphaera apis* é agente causal da ascosferiose em larvas da abelha-europeia, *Apis mellifera*, sendo a infecção desencadeada pela ingestão de ascósporos (esporos sexuais) via alimentos contaminados, incluindo o próprio mel. Essa doença é também conhecida como cria-giz, uma vez que as larvas mortas tornam-se rígidas e mumificadas, assumindo o aspecto de um pequeno bastão de giz branco. Um dos fatores responsáveis pela maior suscetibilidade à doença é o estresse das abelhas e, por isso mesmo, o correto manejo das colmeias é importante para evitar a redução populacional provocada pela ação desse patógeno.

A classe Laboulbeniomyces é repleta de fascinantes membros diminutos, e a quase totalidade dos milhares de espécies conhecidas sobrevive como ectoparasitas obrigatórios de hospedeiros do filo Arthropoda, principalmente insetos e, em menor escala, diplópodes e ácaros. Sobrevivem sobre a cutícula dos seus hospedeiros, preferencialmente coleópteros e dípteros, e, com raras exceções, existe certo grau de especificidade, já que cada espécie coloniza hospedeiros taxonomicamente próximos. Esses fungos formam talos que penetram a cutícula e alcançam a hemolinfa para extração de nutrientes. Entretanto, efeitos deletérios causados por essa invasão não são sempre evidentes e, em muitos casos, os efeitos negativos estão mais relacionados à menor mobilidade ou capacidade sensorial que resulta da elevada densidade de estruturas fúngicas sobre as asas ou antenas, respectivamente.

Por fim, a classe Sordariomycetes detém maior número e diversidade de espécies de fungos patogênicos a insetos e ácaros, sobretudo a ordem Hypocreales, e nela as famílias Ophiocordycipitaceae, Cordycipitaceae e Clavicipitaceae. Do ponto de vista comercial, essas famílias abrigam a quase totalidade das espécies de fungos usadas em programas de controle biológico de artrópodes-praga no mundo. Os representantes entomopatogênicos normalmente reproduzem-se de forma assexuada, embora haja também gêneros com reprodução sexuada, mas estes últimos não alcançaram o status de micoinseticidas, muito embora sejam apreciados por inúmeras outras razões. Em alguns países asiáticos, há grande demanda pelo fungo *Ophiocordyceps sinensis* em razão das propriedades medicinais que abarcam desde

a recuperação pós-cirúrgica até o retardamento no processo de envelhecimento, tornando-o o item mais caro da milenar medicina chinesa. O fungo infecta lagartas da família Hepialidae em regiões alpinas do Nepal e do Tibete, mas tem havido acentuada queda na biomassa por causa da frenética busca por larvas infectadas.

## Nomenclatura de fungos com ciclo de vida pleomórfico

Inúmeros fungos ascomicetos e basidiomicetos apresentam ciclo de vida pleomórfico, isto é, a ocorrência dos ciclos sexual (fase teleomórfica) e assexual (fase anamórfica) se dá na mesma espécie. Há grande diferença morfológica entre as duas formas, e, até recentemente, elas foram consideradas organismos distintos e, conseqüentemente, cada qual recebeu um nome científico próprio. Ao longo dos últimos anos, foi possível estabelecer relações entre as fases sexual e assexual. Liang e colegas (1991), por exemplo, demonstraram que o cultivo de *Metacordyceps taii* em meio com arroz ou a passagem por inseto resultava na formação da fase assexuada, hoje chamada de *M. guizhouense*. Entretanto, com o advento de técnicas moleculares, algumas conexões entre as fases teleomórfica e anamórfica foram esclarecidas. Em 2005, o sequenciamento da região ITS confirmou que *M. taii* era mesmo a fase anamórfica da espécie *M. guizhouense*. Outras conexões foram geneticamente demonstradas, como entre *Hirsutella sinensis* e *O. sinensis*; *B. bassiana* e *Cordyceps bassiana*; e *Metarhizium majus* e *Metacordyceps brittlebankisoides*. Além disso, é muito provável que muitas outras conexões serão desvendadas nos anos vindouros.

Como o sequenciamento genético das formas sexual e assexual leva a resultados idênticos, essa redundância fica evidente nas árvores filogenéticas. Desde 2011, a prática de adoção de dois nomes científicos para o mesmo fungo foi oficialmente abolida, independentemente do estágio do ciclo de vida. A partir dessa data, a regra “um fungo = um nome” passou a ser adotada. Além disso, o nome genérico válido para cada conexão anamorfo-teleomorfo deverá ser confirmado por especialistas em congressos específicos, e a tendência é que tenha prioridade os nomes publicados há mais tempo, e a popularidade dos nomes na comunidade científica será levada em consideração. Nomes de muitas espécies de fungos entomopatogênicos da ordem Hypocreales deverão ser alterados, incluindo aqueles dos gêneros *Isaria*, *Lecanicillium* e *Hirsutella*. Acredita-se que a adoção da regra “um fungo = um nome” ainda levará muitos anos para ser amplamente aplicada a toda a diversidade de fungos com ciclo de vida pleomórfico.

## Principais espécies usadas no controle biológico aplicado

Há um número enorme de artigos científicos que abordam as espécies de fungos associadas aos artrópodes terrestres, mas apenas uma pequena fração destes fungos foi desenvolvida como princípio ativo de micoinseticidas, o que inclui representantes dos filos Ascomycota, Entomophthoromycota e Microsporidia.

No filo Ascomycota, o único gênero na família Ophiocordycipitaceae que alcançou visibilidade mundial foi *Hirsutella*. Nos anos 1970, um produto comercial à base de *Hirsutella thompsonii* foi desenvolvido e comercializado na Flórida para o controle de adultos e imaturos do ácaro *Phyllocoptruta oleivora* em pomares cítricos, promovendo adequado controle da praga durante os meses chuvosos. Embora *H. thompsonii* seja específico para ácaros das famílias Eriophyidae e Tetranychidae, membros de outras espécies são patogênicos a diversos insetos, como coleópteros, dípteros, himenópteros, lepidópteros e psocópteros. A família Cordycipitaceae contempla inúmeros gêneros comercialmente relevantes, com destaque para *Isaria*, *Lecanicillium* e *Beauveria*. Rehner e Buckley (2011) demonstraram que a famosa espécie *B. bassiana* é, na realidade, um complexo de espécies, também conhecido como *B. bassiana* sensu lato, o qual é composto pelas espécies *Beauveria amorpha*, *Beauveria asiatica*, *Beauveria australis*, *B. bassiana* sensu stricto, *Beauveria brongniartii*, *Beauveria caledonica*, *Beauveria kipukae*, *Beauveria malawiensis*, *Beauveria pseudobassiana*, *Beauveria sungii*, *Beauveria varroae* e *Beauveria vermiconia*. Dessas espécies, *B. amorpha*, *B. bassiana* sensu stricto, *B. pseudobassiana* e *B. caledonica* já foram encontradas no Brasil. *B. asiatica*, *B. bassiana* sensu stricto e *B. brongniartii* são o princípio ativo de micoinseticidas em vários países. Da mesma forma, *I. javanica*, *L. longisporum* e *L. muscarium* são ou já foram o princípio ativo de micoinseticidas.

Outra família que abriga gêneros comercialmente relevantes é a Clavicipitaceae, com destaque para *Aschersonia* e *Metarhizium*. De acordo com Bischoff et al. (2009), o complexo de espécies conhecido como *M. anisopliae*, ou *M. anisopliae* sensu lato, é composto pelas seguintes espécies: o agrupamento denominado PARB (*M. pingshaense*, *M. anisopliae* sensu stricto, *M. robertsii* e *M. brunneum*), outro chamado MGT (*M. majus* e *M. guizhouense*, este último corresponde à fase anamórfica de *M. taii*), além de *M. acridum*, *Metarhizium globosum* e *Metarhizium lepidiotae*. Outras espécies desse gênero foram descritas desde então, a exemplo de *Metarhizium alvesii* e *Metarhizium humberi* no Brasil. Entre os micoinseticidas com fungos desse gênero, aqueles à base de *M. anisopliae* sensu stricto, *M. brunneum* e *M. acridum* ocupam papel de destaque. Com relação a *Aschersonia aleyrodis*, um produto chamado Aseronia foi desenvolvido na ex-União Soviética, visando ao controle de moscas-brancas, no entanto não é mais comercializado. O mesmo fato ocorreu com produto

comercial à base do fungo *Metarhizium rileyi* (syn. *Nomuraea rileyi*), desenvolvido na Colômbia e destinado ao controle de lagartas, muito embora haja relatos de sua produção massal em Cuba e, ainda, alguns projetos em andamento no Brasil com o intuito de desenvolver um lagartocida biológico.

No filo Entomophthoromycota, o único membro que atingiu status comercial foi *C. thomboides*, previamente conhecido como *Entomophthora virulenta*. Em levantamento realizado por Faria e Wraight (2007), é mencionado o emprego desse patógeno para o controle de alguns hemípteros (pulgões e cochonilhas) e tripes. Na ocasião, havia um produto em desuso na África do Sul e outro ativo na Colômbia e em países da América Central.

Uma espécie adotada em programas de controle biológico clássico é o microsporídio *Paranosema locustae*, que, até 2003, era conhecido como *Nosema locustae*. Como o próprio nome indica, é parasita obrigatório em ortópteros e, entre eles, principalmente os *grasshoppers* e *locusts*, que, na língua portuguesa, são indistintamente chamados de gafanhotos. Após sua introdução nos pampas argentinos no período 1978-1982, a partir dos EUA, levantamento realizado em 2011 por Bardi et al. (2012) demonstrou o estabelecimento do patógeno em populações de mais de 20 espécies de hospedeiros, cobrindo uma área de aproximadamente 90 mil quilômetros quadrados. Explosões populacionais de gafanhotos-praga na área mencionada são raras, mas espécies ecologicamente benéficas têm sido também infectadas por *P. locustae*.

## PROGRAMAS DE CONTROLE BIOLÓGICO

Muitos programas de controle de pragas com micopesticidas em todo o mundo vêm sendo periodicamente reportados em artigos de revisão e livros, como os recentemente publicados por Lacey et al. (2015) e Lacey (2017).

Em geral, os micopesticidas ocupam nichos de mercado, não raramente sendo desenvolvidos para regiões geográficas ou culturas e alvos específicos. Muitos dos produtos comerciais foram desenvolvidos para uso em cultivos protegidos de hortaliças, ornamentais e algumas frutas e, em alguns casos, usados de forma combinada com outros inimigos naturais. Porém, em várias regiões do globo, existem outros exemplos bem-sucedidos de controle de pragas em grandes áreas de cultivo. Em países da África e da Austrália, o desenvolvimento de formulações oleosas de *M. acridum* surgiu como alternativa viável para o controle de gafanhotos, incluindo a temível espécie *Schistocerca gregaria*. Outro exemplo de sucesso é o emprego de *B. brongniartii* por meio de introduções inoculativas em áreas de florestas e pomares

na Europa contra o besouro *Melolontha melolontha* (Linnaeus). Aplicações desse fungo podem promover níveis satisfatórios de controle por até 9 anos (Keller et al., 1997). Bandas de tecido impregnadas com essa mesma espécie de fungo vêm sendo utilizadas no Japão e na China contra o besouro *Monochamus alternatus* Hope (Shimazu, 2009; Li et al., 2010). Outra espécie do mesmo gênero, *B. bassiana*, também é usada extensivamente na China desde a década de 1970 para o controle da lagarta *Dendrolimus punctatus* (Walker) (Lord, 2005; Li et al., 2010).

É também marcante o histórico de emprego do controle biológico em Cuba, a despeito das dificuldades econômicas do país. Com o embargo norte-americano e a crise que se instalou no país no início dos anos 1990, o governo cubano anunciou drásticas reformas. O Ministério da Agricultura de Cuba concentrou esforços no desenvolvimento e na aplicação do controle biológico, envolvendo nesse processo organizações de proteção vegetal, laboratórios regionais de pesquisa e diagnósticos, além de cerca de 270 Centros Reproductores de Entomófagos y Entomopatógenos (Cree) (Vásquez-Moreno et al., 2010). A produção e o emprego de entomopatógenos fúngicos em Cuba incluem os fungos *B. bassiana* s.l., *M. anisopliae* s.l. e *Lecanicillium lecanii*, entre outros microrganismos, permitindo o controle de um grande número de pragas na agricultura (Oppenheim, 2001). Porém, como frequentemente acontece, não há dados sobre medidas de eficiência desses programas.

O número de empresas no Brasil com produtos biológicos registrados teve um aumento de 83% em menos de uma década. Um dos maiores programas de controle de artrópode-praga por meio de fungos ocorre no Brasil. Mais de 750 mil hectares de cana-de-açúcar e 250 mil hectares de pastagens são tratadas anualmente com *M. anisopliae* s.l. contra cercopídeos, especialmente de cigarrinhas do gênero *Mahanarva* (Li et al., 2010). Outros países latino-americanos como Guatemala, Nicarágua, México e Costa Rica também empregam o mesmo fungo para o controle de cercopídeos em cana-de-açúcar (Alves et al., 2008). Embora elevada em termos absolutos, a participação percentual dos fungos como agentes de controle biológico ainda é tímida nas culturas para as quais há alternativas biológicas disponíveis.

O perfil atual da indústria de agentes de controle biológico inclui, em sua maioria, pequenas e médias empresas especializadas, poucas estabelecidas há mais de 15 anos. Grandes empresas tradicionalmente líderes no mercado de agrotóxicos sintéticos estão adquirindo ou reativando divisões relacionadas ao desenvolvimento de biopesticidas, por causa das perspectivas de negócios no mercado brasileiro.

## DESAFIOS E PERSPECTIVAS

Assim como qualquer outra tática de controle de pragas, o controle microbiano com fungos entomopatogênicos apresenta vantagens e desvantagens, e não deve ser enxergado como a única alternativa a ser adotada. O tempo relativamente longo para levar os hospedeiros à morte é considerado uma desvantagem, mas somente nos casos em que a sobrevivência do inseto na lavoura possa resultar em perdas econômicas significativas. Não raramente, durante a evolução da doença, alguns aspectos fisiológicos são alterados antes da morte do hospedeiro, entre eles os hábitos de alimentação e reprodução, os quais reduzem o potencial destrutivo dos organismos infectados. A necessidade de condições de elevada umidade relativa e a vulnerabilidade à radiação solar são outros fatores limitantes ao uso dos micoinseticidas. Nesse contexto, as condições abióticas no momento da aplicação devem ser cuidadosamente monitoradas, podendo-se, por exemplo, priorizar as aplicações ao final do dia e durante a noite, quando a radiação solar é menor ou ausente e a umidade relativa do ar é favorável à ação do entomopatógeno. Em cultivos protegidos, os efeitos negativos desses fatores podem ser minimizados pelo emprego de coberturas específicas e sistemas de irrigação ou aspersão controlada de água. Adicionalmente, os avanços nos processos de produção, a seleção de linhagens apropriadas que levam em conta a competência ecológica e, sobretudo, o desenvolvimento de formulações específicas podem auxiliar no combate aos efeitos abióticos danosos aos fungos.

Por sua vez, as vantagens do uso de fungos entomopatogênicos são numerosas. Destaca-se sua segurança para os organismos vertebrados e o meio ambiente, além da contribuição para o menor emprego de produtos químicos nas lavouras. Fungos entomopatogênicos são organismos componentes do ambiente, que podem ser isolados de solo e de insetos e, normalmente, apresentam bons níveis de especificidade ao hospedeiro. Podem causar epizootias espetaculares, principalmente em cultivos perenes, semiperenes e em casas de vegetação, desde que encontrem condições de umidade relativa propícias ao seu desenvolvimento. Por causa do complexo mecanismo de ação dos fungos, que envolve a travessia da cutícula dos hospedeiros, o desenvolvimento de resistência por parte de insetos e ácaros é bastante improvável. Essa vantagem é importante e desejável no contexto atual de redução de opções químicas para o agricultor, tanto pelo cancelamento de registro dos produtos químicos mais tóxicos quanto pela dificuldade de descoberta de novas moléculas inseticidas. Além dos aspectos relacionados à resistência, o potencial que os fungos têm de causar a morte de artrópodes sugadores, quando comparado às bactérias e aos vírus entomopatogênicos, que atuam via oral, torna-os agentes de grande interesse para o controle de moscas-brancas e pulgões, entre outras pragas.

## REFERÊNCIAS

- ALI, S.; REN, S. X.; HUANG, Z.; WU, J. H. Purification of enzymes related to host penetration and pathogenesis from entomopathogenic fungi. In: MENDEZ-VILAS, A. (Ed.). Current research, technology and education topics in applied microbiology and microbial biotechnology. **Formatex Research**, 2010. v. 1, p. 15-22.
- ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: Fealq, 1998.
- ALVES, S. B.; LOPES, R. B.; VIEIRA, S. A.; TAMAI, M. A. Fungos entomopatogênicos usados no controle de pragas na América Latina. In: ALVES, S. B.; LOPES, R. B. (Ed.). **Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios**. Piracicaba: Fealq, 2008. p. 69-110.
- ARSEF Catalog. 2015. Disponível em: <<https://data.nal.usda.gov/dataset/ars-collection-entomopathogenic-fungal-cultures-arsef>>. Acesso em: 30 jan. 2019.
- BARDI, C.; MARIOTTINI, Y.; PLISCHUK, S.; LANGE, C. E. Status of the alien pathogen *Paranosema locustae* (Microsporidia) in grasshoppers (Orthoptera: Acridoidea) of the Argentine Pampas. **Biocontrol Science and Technology**, v. 22, n. 5, p. 497-512, 2012. DOI: 10.1080/09583157.2012.665023.
- BAXI, S. N.; PORTNOY, J. M.; LARENAS-LINNEMANN, D.; PHIPATANAKUL, W.; ENVIRONMENTAL ALLERGENS WORKGROUP. Exposure and health effects of fungi on humans. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 4, n. 3, p. 396-304, May-June, 2016. DOI: 10.1016/j.jaip.2016.01.008.
- BAYISSA, W.; EKESI, S.; MOHAMED, S. A.; KAAYA, G. P.; WAGACHA, J. M.; HANNA, R.; MANIANIA, N. Interactions among vegetable-infesting aphids, the fungal pathogen *Metarhizium anisopliae* (Ascomycota: Hypocreales) and the predatory coccinellid *Cheilomenes lunata* (Coleoptera: Coccinellidae). **Biocontrol Science and Technology**, v. 26, p. 274-290, 2016. DOI: 10.1080/09583157.2015.1099148.
- BEEZHOLD, D. H.; GREEN, B. J.; BLACHER, F. M.; SCHEMECHEL, D.; WEISSMAN, D. N.; VELICKOFF, D.; HOGAN, M. B.; WILSON, N.W. Prevalence of allergic sensitization to indoor fungi in West Virginia. **Allergy Asthma Proceedings**, v. 29, p. 29-34, 2008.
- BISCHOFF, J. F.; REHNER, S. A.; HUMBER, R. A. A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. **Mycologia**, v. 101, p. 512-530, 2009. DOI: 10.3852/07-202.
- BORGES, M.; LEAL, S. C. M.; TIGANO-MILANI, M. S.; VALADARES-INGLIS, M. C. Efeito do feromônio de alarme do percevejo verde, *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae) sobre o fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 22, p. 505-512, 1993.
- BRAGA, G. U. L.; RANGEL, D. E. N.; FERNANDES, E. K. K.; FLINT, S. D.; ROBERTS, D. W. Molecular and physiological effects of environmental UV radiation on fungal conidia. **Current Genetics**, v. 61, n. 3, p. 405-425, Aug. 2015.
- BRASIL. Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 1 ago. 2019.
- BRASIL. Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a



classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, 12 jul. 1989.

BRUNNER-MENDOZA, C.; NAVARRO-BARRANCO, H.; LEON-MANCILLA, B.; PEREZ-TORRES, A.; TORIELLO, C. Biosafety of an entomopathogenic fungus *Isaria fumosorosea* in an acute dermal test in rabbits.

**Cutaneous and Ocular Toxicology**, v. 36, p. 12-18, 2017. DOI: 10.3109/15569527.2016.1156122.

BUSHLEY, K. E.; RAJA, R.; JAISWAL, P.; CUMBIE, J. S.; NONOGAKI, M.; BOYD, A. E.; OWENSBY, A.; KNAUS, B. J.; ELSER, J.; MILLER, D.; DI, Y.; MCPHAIL, K. L.; SPATAFORA, J. W. 2013 The genome of *Tolypocladium inflatum*: evolution, organization, and expression of the cyclosporin biosynthetic gene cluster.

**PLoS Genetics**, v. 9, n. 6, June 2013. DOI: 10.1371/journal.pgen.1003496.

DUO-CHUAN, L. Review of fungal chitinases. **Mycopathologia**, v. 161, n. 6, p. 345-360, 2006.

FARIA, M. R.; WRIGHT, S. P. Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. **Biological Control**, v. 43, n. 3, p. 237-256, Dec. 2007. DOI: 0.1016/j.biocontrol.2007.08.001.

FARIA, M.; LOPES, R. B.; SOUZA, D. A.; WRIGHT, S. P. Conidial vigor vs. viability as predictors of virulence of entomopathogenic fungi. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 125, p. 68-72, 2015. DOI: 10.1016/j.jip.2014.12.012.

GOŁĘBIEWSKI, M.; MALIŃSKI, E.; BOGUŚ, M.I.; KUMIRSKA, J. The cuticular fatty acids of *Calliphora vicina*, *Dendrolimus pinii* and *Galleria mellonella* larvae and their role in resistance to fungal infection. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 38, p. 619-627, 2008. DOI: 0.1016/j.ibmb.2008.03.005.

GOŁĘBIEWSKI, M.; URBANEK, A.; OLESZCZAKA, A.; DAWGULC, M.; KAMYSZC, W.; BOGUŚ, M.I.; STEPNOWSKI, P. The antifungal activity of fatty acids of all stages of *Sarcophaga carnaria* L. (Diptera: Sarcophagidae). **Microbiological Research**, v. 169, n. 4, p. 279-286, Apr. 2014. DOI: 10.1016/j.micres.2013.07.011.

GUPTA, S.; KRASNOFF, S. B.; ROBERTS, D. W.; RENWICK, J. A. A.; BRINEN, L. S.; CLARDY, J. Structure of efrapeptins from the fungus *Tolypocladium niveum*: peptide inhibitors of mitochondrial ATPase. **Journal of Organic Chemistry**, v. 57, p. 2306-2313, Apr. 1992. DOI: 10.1021/jo00034a022.

GUPTA, S.; KRASNOFF, S. B.; UNDERWOOD, N. L.; RENWICK, J. A. A.; ROBERTS, D. W. Isolation of beauvericin as an insect toxin from *Fusarium semitectum* and *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*. **Mycopathologia**, v. 115, n. 3.

GUPTA, S.; ROBERTS, D. W.; RENWICK, J. A. A. Insecticidal cyclodepsipeptides from *Metarhizium anisopliae*. **Journal of Chemical Society, Perkin Transactions 1**, n. 12, p. 2347-2357, 1989. DOI: 10.1039/A908808C.

HIBBETT, D. S.; BINDER, M.; BISCHOFF, J. F.; BLACKWELL, M.; CANNON, P. F.; ERIKSSON, O. E.; HUHDORF, S.; JAMES, T.; KIRK, P. M.; LÜCKING, R.; THORSTEN LUMBSCH, H.; LUTZONI, F.; MATHENY, P. B.; MCLAUGHLIN, D. J.; POWELL, M. J.; REDHEAD, S.; SCHOCH, C. L.; SPATAFORA, J. W.; STALPERS, J. A.; VILGALYS, R.; AIME, M. C.; APTROOT, A.; BAUER, R.; BEGEROW, D.; BENNY, G. L.; CASTLEBURY, L. A.; CROUS, P. W.; DAI, Y. C.; GAMS, W.; GEISER, D. M.; GRIFFITH, G. W.; GUEIDAN, C.; HAWKSWORTH, D. L.; HESTMARK, G.; HOSAKA, K.; HUMBER, R. A.; HYDE, K. D.; IRONSIDE, J. E.; KÖLJALG, U.; KURTZMAN, C. P.; LARSSON, K. H.; LICHTWARDT, R.; LONGCORE, J.; MIADLIKOWSKA, J.; MILLER, A.; MONCALVO, J. M.; MOZLEY-STANDRIDGE, S.; OBERWINKLER, F.; PARMASO, E.; REEB, V.; ROGERS, J. D.; ROUX, C.; RYVARDEN, L.; SAMPAIO, J. P.; SCHÜSSLER, A.; SUGIYAMA, J.; THORN, R. G.; TIBELL, L.; UNTEREINER, W. A.; WALKER, C.; WANG, Z.; WEIR, A.; WEISS, M.; WHITE, M. M.; WINKA, K.; YAO, Y. J.; ZHANG, N. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. **Mycological Research**, v. 111, n. 5, p. 509-547, May 2007. DOI: 10.1016/j.mycres.2007.03.004.

HOKKANEN, H. M. T.; MENZLER-HOKKANEN, I. Use of honeybees in the biological control of plant diseases. **Entomology Research**, v. 37, p. A62-A63, Aug. 2007.



HU, G.; St. LEGER, R. J. Field studies using a recombinant mycopesticide (*Metarhizium anisopliae*) reveal that it is rhizosphere competent. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, p. 6383-6387, 2002.

HUMBER, R. A. *Entomophthoromycota*: a new phylum and reclassification of entomophthoroid fungi. **Mycotaxon**, v. 120, p. 477-492, 2012. DOI: 10.5248/120.477.

HUMBER, R. A. Evolution of entomopathogenicity in fungi. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 98, p. 262-266, July 2008.

ISAKA, M.; YANGCHUM, A.; RACHTAWEE, P.; KOMWIJIT, S.; LUTTHISUNGNEON, A. Hopane-type triterpenes and binaphthopyrones from the scale insect pathogenic fungus *Aschersonia paraphysata* BCC 11964. **Journal of Natural Products**, v. 73, n. 4, p. 688-692, 2010.

JAMES, R. R.; BUCKNER, J. S.; FREEMAN, T. P. Cuticular lipids and silverleaf whitefly stage affect conidial germination of *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 84, p. 67-74, 2003. DOI: 10.1021/np1000363.

JAVAR, S.; MOHAMED, R.; SAJAP, A. S.; LAU, W-H. Expression of pathogenesis-related genes in *Metarhizium anisopliae* when infecting *Spodoptera exigua*. **Biological control**, v. 85, p. 30-36, June 2015. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2015.03.006.

KARISE, R.; DREYERSDORFF, G.; JAHANI, M.; VEROMANN, E.; RUNNO-PAURSON, E.; KAART, T.; SMAGGHE, G.; MÄND, M. Reliability of the entomovector technology using Pestop-Mix and *Bombus terrestris* L. as a fungal disease biocontrol method in open field. **Scientific Reports**, v. 6, art. number 31650, Aug. 2016.

KELKENBERG, M.; ODMAN-NARESH, J.; MUTHUKRISHNAN, S.; MERZENDORFER, H. Chitin is a necessary component to maintain the barrier function of the peritrophic matrix in the insect midgut. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 56, p. 21-28, Jan. 2015. DOI: 10.1016/j.ibmb.2014.11.005.

KELLER, S.; SCHWEIZER, C.; KELLER, E.; BRENNER, H. Control of white grubs (*Melolontha melolontha* L.) by treating adults with the fungus *Beauveria brongniartii*. **Biocontrol Science & Technology**, v. 7, n. 105-116, 1997. DOI: 10.1080/09583159731090.

KEPLER, R. M.; LUANGSA-ARD, J.; HYWEL-JONES, N. L.; QUANDT, C. A.; SUNG, G-H.; REHNER, S. A.; AIME, C.; HENKEL, T. W.; SANJUAN, T.; ZARE, R.; CHEN, M.; LI, Z.; ROSSMAN, A. Y.; SPATAFORA, J.; SHERSTHA, B. A phylogenetically-based nomenclature for Cordycipitaceae (Hypocreales). **IMA Fungus**, v. 8, p. 335-353, 2017.

KLEINKAUF, H.; VON DÖHREN, H. Biosynthesis of peptide antibiotics. **Annual Review of Microbiology**, v. 41, p. 259-289, 1987.

KLEINKAUF, H.; VON DÖHREN, H. Review: nonribosomal biosynthesis of peptide antibiotics. In: FEDERATION OF EUROPEAN BIOCHEMICAL SOCIETIES; CHRISTEN, P.; HOFMANN, E. (Ed.). **EJB Reviews 1990**. Berlin, Germany: Springer, 1990. p. 151-165.

LACEY L. **Microbial control of insect and mite pests**: from theory to practice. San Diego: Academic Press, 2017. 461 p.

LACEY, L.; GRZYWACZ, D.; SHAPIRO-ILAN, D. I.; FRUTOS, R.; GOETTEL, M. S.; BROWNBIDGE, M. Insect pathogens as biological control agents: back to the future. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 132, p. 1-41, Nov. 2015. DOI: 10.1016/j.jip.2015.07.009

LASTRA, C. C. L.; GIBSON, D. M.; HAJEK, A. E. Survival and differentiation development of *Entomophaga maimaiga* and *Entomophaga aulicae* (Zygomycetes: Entomophthorales) in *Lymantria dispar* hemolymph. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 74, n. 4, p. 201-209, Nov. 2001. DOI: 10.1006/jipa.2001.5069

LEFORT, M. C.; MCKINNON, A. C.; NELSON, T. L.; GLARE, T. R. Natural occurrence of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* as a vertically transmitted endophyte of *Pinus radiata* and its effect on above-below-ground insect pests. **New Zealand Plant Protection**, v. 69, p. 68-77, 2016.

LI, Z.; ALVES, S. B.; ROBERTS, D.; FAN, M.; DELALIBERA, I.; TANG, J.; LOPES, R. B.; FARIA, M.; RANGEL, DEN. Biological control of insects in Brazil and China: history, current programs and reasons for their successes using entomopathogenic fungi. **Biocontrol Science & Technology**, v. 20, n. 2, p. 117-136, 2010. DOI: 10.1080/09583150903431665.

LIANG, Z-Q.; LIU, A-Y.; LIU, J-L. A new species of the genus *Cordyceps* and its *Metarhizium* anamorph. **Acta Mycologica Sinica**, v. 10, p. 257-262, 1991.

LICHTWARDT, R. W. Trichomycetes: fungi in relationship with insects and other arthropods. **Symbiosis**, v. 4, p. 575-588, 2004.

LOPES, R. B.; LAUMANN, R. A.; BLASSIOLI-MORAES, M. C.; BORGES, M.; FARIA, M. The fungistatic and fungicidal effects of volatiles from metathoracic glands of soybean-attacking stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae) on the entomopathogen *Beauveria bassiana*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 132, p. 77-85, Nov. 2015. DOI: /10.1016/j.jip.2015.08.011.

LORD, J. C. From Metchnikoff to Monsanto and beyond: the path of microbial control. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 89, p. 19-29, 2005. DOI: 10.1016/j.jip.2005.04.006.

LORD, J. C.; HOWARD, R. W. A proposed role for the cuticular fatty amides of *Liposcelis bostrychophila* (Psocoptera: Liposcelidae) in preventing adhesion of entomopathogenic fungi with dry-conidia. **Mycopathologia**, v. 158, p. 211-217, 2004.

McINNES, A. G.; SMITH, D. G.; WAT, C. K.; VINNING, L. C.; WRIGHT, J. L. C. Tenellin and bassianin, metabolites of *Beauveria* species. Structure elucidation with <sup>15</sup>N- and doubly <sup>13</sup>C- enriched compounds using <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Journal of Chemical Society, Chemical Communications**, v. 8, p. 281-282, 1974.

MENG, X.; HU, J.; XU, X.; WANG, Z.; HU, Q.; JIN, F.; REN, S. Toxic effect of destruxin A on abnormal wing disc-like (SLAWD) in *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae). **PLoS ONE**, v. 8, n. 2, Feb. 2013. e57213. DOI: 10.1371/journal.pone.0057213.

MESSELINK, G.; INGEGNO, B. L. Recommended future research for biological control in greenhouse vegetable crops. **BioGreenhouse**, n. 16, Mar. 2016. DOI: 10.18174/373608.

MOMMAERTS, V.; SMAGGLE, G. Entomovectoring in plant protection. **Arthropod-Plant Interaction**, v. 5, p. 81-95, Jan. 2011.

MUKAWA, S.; TOOYAMA, H.; IKEGAMI, T. Influence of humidity on the infection of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae), by *Beauveria bassiana*. **Applied Entomology and Zoology**, v. 46, n. 2, p. 255-264, May 2011.

NOURISSON, C.; DUPONT, D.; LAVERGNE, R. A.; DORIN, J.; FOROUZANFAR, F.; DENIS, J.; WEEKS, K.; JOUBERT, R.; CHIAMBARETTA, F.; BOUCIER, T.; ROUX, S.; SÉNÉCHAL, A.; BENAÏM, G.; WALLON, M.; CANDOLFI, E.; LETSCHER-BRU, V.; POIRIER, P.; SABOU, M. Species of *Metarhizium anisopliae* complex implicated in human infections: retrospective sequencing study. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 23, n. 12, p. 994-999, Dec. 2017. DOI: 10.1016/j.cmi.2017.05.001.

OPPENHEIM, S. Alternative agriculture in Cuba. **American Entomologist**, v. 47, n. 4, p. 216-227, 2001.

REHNER, S. A.; BUCKLEY, E. A. *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1- $\alpha$  sequences: evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps* teleomorphs. **Mycologia**, v. 97, p. 84-98, Jun. 2011. DOI: 10.1080/15572536.2006.11832842.

ROY, H. E.; STEINKRAUS, D. C.; EILENBERG, J.; HAJEK, A. E.; PELL, J. K. Bizarre interactions and endgames: entomopathogenic fungi and their arthropod hosts. **Annual Review of Entomology**, v. 51, p. 331-357, Jan. 2006. DOI: 10.1146/annurev.ento.51.110104.150941.

SÁNCHEZ-PÉREZ, L. C.; BARRANCO-FLORIDO, J. E.; RODRÍGUEZ-NAVARRO, S.; CERVANTES-MAYAGOITIA, J. F.; RAMOS-LÓPEZ, M. Á. Enzymes of entomopathogenic fungi, advances and insights. **Advances in Enzyme Research**, v. 2, n. 2, p. 65-76, 2014. DOI: 10.4236/aer.2014.22007,

SHIMAZU, M. Use of microbes for control of *Monochamus alternatus*, vector of the invasive pinewood nematode. In: AJEK, A. E.; GLARE, T. R.; O'CALLAGHAN, M. (Ed.). **Use of microbes for control and eradication of invasive arthropods**. [London]: Springer, 2009. p. 141-157.

SHIMIZU, S.; YAMJI, M. Effect of density of the termite, *Reticulitermes speratus* Kolbe (Isoptera: Rhinotermitidae), on the susceptibilities to *Metarhizium anisopliae*. **Applied Entomology and Zoology**, v. 38, p. 125-130, 2003. DOI: 10.1303/aez.2003.125.

SIMÕES, R. A.; REIS, L. G.; BENTO, J. M. S., SOLTER, L. F., DELALIBERA, I. Biological and behavioral parameters of the parasitoid *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) are altered by the pathogen *Nosema* sp. (Microsporidia: Nosematidae). **Biological Control**, v. 63, n. 2, p. 164-171, 2012. DOI:10.1016/j.biocontrol.2012.06.012

SINGH, D.; SON, S. Y.; LEE, C. H. Perplexing metabolomes in fungal-insect trophic interactions: a *Terra incognita* of micobiocontrol mechanisms. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1-13, Oct. 2016. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01678.

SMAGGHE, G.; MOMMAERTS, V.; HOKKANEN, H.; MENZLER-HOKKANEN, I.; Multitrophic interactions: the entomovector technology. In: SMAGGHE, G.; DIAZ, I. (Ed.). **Arthropod-Plant Interactions: novel insights and approaches for IPM**. Berlin: Springer, 2012. p. 127-157. (Progress in Biological Control, 14).

SMAGGHE, G.; MEYER, L. D.; MEEUS, I.; MOMMAERTS, V. Safety and acquisition potential of *Metarhizium anisopliae* in entomovectoring with bumblebees, *Bombus terrestris*. **Horticultural Entomology**, v. 106, p. 277-282, 2013. DOI: 10.1603/EC12332.

SOSA-GOMEZ, D. R.; BOUCIAS, D. G.; NATION, J. L. Attachment of *Metarhizium anisopliae* to the southern green stink bug *Nezara viridulal* cuticle and fungistatic effect of cuticular lipids and aldehydes. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 69, p. 31-39, Jan. 1997. DOI:/10.1006/jipa.1996.4619.

St. LEGER, R. J.; FRANK, D. C.; ROBERTS, D. W.; STAPLES, R. C. Molecular-cloning and regulatory analysis of the cuticle-degrading protease structural gene from the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **European Journal of Biochemistry**, v. 204, p. 991-1001, 1992. Mar DOI: 10.1111/j.1432-1033.1992.tb16721.x.

STRASSER, H.; VEY, A.; BUTT, T. M. Are there any risks in using entomopathogenic fungi for pest control, with particular reference to the bioactive metabolites of *Metarhizium*, *Tolypocladium* and *Beauveria* species? **Biocontrol Science and Technology**, v. 10, n. 6 p. 717-735, 2000. DOI: 10.1080/09583150020011690.

SUZUKI, A.; KANAOKA, M.; ISOGAI, A.; TAMURA, S.; MURAKOSHI, S.; ICHINOE, M. Bassianolide, a new insecticidal cyclodepsipeptide from *Beauveria bassiana* and *Verticillium lecanii*. **Tetrahedron Letters**, v. 18, n. 25, p. 2167-2170, 1977. DOI: 10.1016/S0040-4039(01)83709-6.

TURNER, G. Exploitation of fungal secondary metabolites old and new. **Microbiology Today**, v. 27, n. 3, p. 118-121, 2000.

ULRICH, K. R.; FELDLAUFRER, M. F.; KRAMER, M.; St. LEGER, R. J. ST. Inhibition of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* sensu lato *in vitro* by the bed bug defensive secretions (E)-2-hexenal and (E)-octenal. **BioControl**, v. 60, n. 4, p. 517-526, 2015.

VÁSQUEZ-MORENO, L. L.; FIGUEROA, S. C.; PÉREZ, A. C.; MICHELENA, J. G.; GARCÍA, J. L. A.; FERNÁNDEZ, A. R.; BARRIOS, M. B.; RAMÍREZ, L. A. R.; SÁNCHEZ, R. G.; SANTOS, T. C.; MOLINEDA, M. F.; RODRÍGUEZ, M. P.; CAMPBELL, I. E.; CARDONA, L. L.; PEÑA, E. C.; TORRES, T. R.; SUÁREZ, O. C. Diagnóstico de la utilización de entomófagos y entomopatógenos para el control biológico de insectos por los agricultores en Cuba. **Fitosanidad**, v. 14, n. 3, p. 159-169, Jul./Set. 2010.

VINING, L. C.; KELLEHER, W. J.; SCHWARTING, A. E. Oosporein production by a strain of *Beauveria bassiana* originally identified as *Amanita muscaria*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 8, p. 931-933, 1962.

WANG, C.; St. LEGER, R. J. A collagenous protective coat enables *Metarhizium anisopliae* to evade insect immune responses. **Proceedings of the National Academy of Science**, v. 103, p. 6647-6652, 2006.

WANG, C.; St. LEGER, R. J. ST. The MAD1 adhesin of *Metarhizium anisopliae* links adhesion with blastospore production and virulence to insects, and MAD2 adhesin enables attachment to plants. **Eukaryotic cell**, v. 6, p. 808-816, 2007.

WANG, Z. L.; ZHANG, L. B.; YING, S. H.; FENG, M-G. Catalases play differentiated roles in the adaptation of a fungal entomopathogen to environmental stresses. **Environmental Microbiology**, v. 15, n. 2, p. 409-418, 2013. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2012.02848.x

WARD, M. D.; CHUNG, Y. J.; COPELAND, L. B.; DOERFLER, D. L. Allergic responses induced by a fungal biopesticide *Metarhizium anisopliae* and house dust mite are compared in a mouse model. **Journal of Toxicology**, Art. ID 360805, Apr. 2011. DOI: 10.1155/2011/360805.

WESTWOOD, G. S.; HUANG, S. W.; KEYHANI, N. O. Allergens of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. **Clinical and Molecular Allergy**, v. 3, n. 1, p. 1-10, Jan. 2005.

WESTWOOD, G. S.; HUANG, S. W.; KEYHANI, N. O. Molecular and immunological characterization of allergens from the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. **Clinical and Molecular Allergy**, v. 4, p. 12, 2006.

YANAGAWA, A.; FUJIIWARA-TSUJII, N.; AKINO, T.; YOSHIMURA, T.; YANAGAWA, T.; SHIMIZU, S. Odor aversion and pathogen-removal efficiency in grooming behavior of the termite *Coptotermes formosanus*. **PLoS One**, v. 7, 2012. DOI: 10.1371/journal.pone.0047412.

YANAGAWA, A.; YOKOHARI, F.; SHIMIZU, S. Defense mechanism of the termite, *Coptotermes formosanus* Shikari, to entomopathogenic fungi. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 97, n. 2, p. 165-170, Feb. 2008. DOI: 0.1016/j.jip.2007.09.005.

YANGAWA, A.; YOKOHARI, F.; SHIMIZU, S. The role of antennae in removing entomopathogenic fungi from cuticle of the termite, *Coptotermes formosanus*. **Journal of Insect Science**, v. 9, n. 6, p. 1-9, Feb. 2009.

ZIMMERMANN, G. Review on safety of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 17, p. 879-920, Mar. 2007. DOI: 10.1080/09583150701593963.