



## OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO DE *Trichoderma asperelloides* POR FERMENTAÇÃO SÓLIDA EM FARINHA DE ARROZ

Renato Cintra **Camargo**<sup>1</sup>; Lucas Guedes **Silva**<sup>2</sup>; Gabriel Moura **Mascarin**<sup>3</sup>; Wagner **Bettiol**<sup>4</sup>

Nº 21416

**RESUMO** – O controle biológico tem crescido de importância e figurado como um importante aliado no manejo de pragas e doenças agrícolas. Contudo, para a produção em massa de agentes microbianos, escolher componentes econômicos e estabelecer condições para uma esporulação mais rápida são fatores preponderantes na redução dos custos de produção e aumento no rendimento de propágulos infectivos. O estudo objetivou avaliar o potencial da farinha de arroz como substrato para a produção em massa de *Trichoderma asperelloides* LQC-96, otimizar condições de cultivo e selecionar fontes de nitrogênio que proporcionem o maior rendimento de conídios. Os ensaios fermentativos utilizaram delineamento Plackett-Burman para cinco fatores e dois níveis cada. Diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) foram observadas para o tipo de fermentador e o teor de nitrogênio, em que as maiores produções foram obtidas em frasco Erlenmeyer contendo 0,1% do peso do substrato em nitrogênio. Posteriormente, os fatores foram fixados visando a maior economicidade e rendimento de propágulos e avaliado o efeito de cinco fontes de nitrogênio. O experimento seguiu um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições, sendo o rendimento de propágulos avaliado no 14º dia de incubação, em que a levedura hidrolisada e autolisada e a milhocina proporcionaram os maiores rendimentos. Os estudos sugerem que a farinha de arroz suplementada com uma fonte de N é um potencial substrato para fermentação sólida de *T. asperelloides* que não deixa resíduos no processo, podendo ser diretamente extrusado para formulação em grânulos, sem a necessidade de extração dos propágulos.

**Palavras-chaves:** Controle biológico, produção de conídios aéreos, biofungicida, produção massal-

<sup>1</sup>Graduando em Engenharia Agrônoma, Bolsista CNPq (PIBIC), ESALQ/USP, Piracicaba-SP; renatocintracamargo@usp.br

<sup>2</sup>Doutorando em Proteção de Plantas, Unesp/FCA, Bolsista CAPES, Botucatu-SP;

<sup>3</sup>Analista da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP;

<sup>4</sup>Orientador: Pesquisador Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP; wagner.bettiol@embrapa.br



**ABSTRACT** – *Biological control has grown in importance and is important ally in the management of pests and diseases of plants. However, for the mass production of biocontrol agents, choose economic components and establish conditions for faster sporulation are major driven factors in reducing costs and increase the production of propagules. The objectives of this study were to evaluate the potential of rice flour as a substrate for mass production of Trichoderma asperelloides LQC-96, optimize cultivation conditions, and select nitrogen sources that provide the highest conidia production. The fermentation assays used Plackett-Burman experimental design with five factors and two levels each. Significant differences ( $P < 0.05$ ) were observed for fermenter type and nitrogen concentrations, in which the highest conidia production was obtained in Erlenmeyer flasks with 0.1% nitrogen in the substrate weight. Subsequently, the factors were fixed aiming at the highest economy and production of propagules and the effect of five nitrogen sources were assessed. The experiment was performed in a completely randomized design with five treatments and four replicates. Conidia production was evaluated on the 14<sup>th</sup> day of incubation, in which the hydrolyzed and self-smoothed yeast and corn steep liquor enhanced spore production. These results suggested the feasibility and suitability of rice flour supplemented with a source of N as a potential substrate for solid fermentation of T. asperelloides as it leaves no residues in the process and can be directly extruded for the formulation in granules, without the need for extraction of the spores.*

**Keywords:** Biological control, production of aerial conidia, biofungicide, mass production.

## 1. INTRODUÇÃO

A população mundial está se aproximando de 8 bilhões de pessoas, e com isso o desafio de garantir provisões de alimentos e recursos energéticos, ambos dependentes de plantas, além de uma infinidade de matérias-primas e produtos, cresce a cada minuto. Outro desafio está relacionado com as crescentes exigências globais para reduzir a dependência de insumos químicos e garantir a sustentabilidade dos ecossistemas agrícolas; portanto, aumentar a produtividade sem comprometer a integridade é imperativo no atual cenário (TILMAN *et al.*, 2002). Entre as alternativas propostas para auxiliar nesse processo, a utilização de microrganismos tem se destacado como uma abordagem promissora, pois além de oferecerem uma alternativa ecologicamente correta para incorporação nos programas integrados de manejo de pragas e doenças, é um método seguro, economicamente vantajoso e de reduzido impacto no meio ambiente e à saúde humana, além de apresentar risco mínimo para organismos benéficos não-alvos (VAN LENTEREN, 1997; VAN LENTEREN *et al.*, 2018).



A estimativa é de que o mercado mundial de bioprotetores atinja US\$ 8,5 bilhões em 2025 com uma taxa composta anual de crescimento de 14,7 % (MARKETS AND MARKETS, 2020). Entretanto, mesmo com o acentuado crescimento do mercado de bioprotetores, as dificuldades enfrentadas na multiplicação, armazenamento, comercialização e, principalmente, no desenvolvimento de formulações estáveis e com vida de prateleira adequada, afetam seriamente a oferta e a qualidade de produtos no mercado. Como consequência, o desenvolvimento de novas formulações que possam levar ao aprimoramento de agentes ativos constitui um importante desafio econômico e tecnológico (FARIA *et al.*, 2010).

A produção massal de agentes de biocontrole pode ser realizada de três formas: via fermentação sólida, líquida ou bifásica. No Brasil, produtos à base de *Trichoderma* representam uma considerável parcela do mercado de microbiológicos (BETTIOL; SILVA; CASTRO, 2019) e são produzidos exclusivamente via fermentação bifásica, na qual o inóculo é inicialmente produzido em cultura líquida e transferido para substratos sólidos para a produção de conídios (LI *et al.*, 2010; MASCARIN; ALVES; LOPES, 2010; WOO *et al.*, 2014; MASCARIN *et al.*, 2019). Nesse processo, grãos de arroz são majoritariamente utilizados como substrato e se realiza a incubação em sacos embalagens de polipropileno ou em bandejas por um período de 10 a 14 dias, com posterior remoção dos conídios (FARIA; WRAIGHT, 2007; LI *et al.*, 2010; MASCARIN *et al.*, 2019). Entretanto, apesar do bom rendimento de propágulos, os custos associados à aquisição dos substratos e as dificuldades na extração massal de conídios dos grãos ainda são obstáculos a serem vencidos (MASCARIN *et al.*, 2019).

Desse modo, diversos substratos economicamente mais atraentes, baseados em resíduos agroindustriais, são frequentemente avaliados para a produção industrial (REBAH *et al.*, 2007). Entre eles, substratos amiláceos estão entre os principais, uma vez que são abundantes, não tóxicos, biodegradáveis, de fácil manuseio e processamento, e de baixo custo. Ademais, a adição de amido às formulações pode atuar de forma positiva a microrganismos acidulantes, uma vez que eles podem hidrolisar o amido em açúcares elementares e metabolizá-lo como fonte de energia (KLAIC *et al.*, 2018), além de melhorar a viabilidade e a vida útil dos microrganismos formulados devido ao seu suporte estrutural, protegendo-os de estresses térmicos, oxidativos e osmóticos (TAL *et al.*, 1999, CHAN *et al.*, 2011, SCHOEBITZ; SIMONIN; PONCELET, 2012).

A utilização de farinha de arroz como substrato para a produção de *Trichoderma* spp. apresenta potencial, uma vez que a composição centesimal é muito similar à composição do arroz branco polido, e ao final do processo fermentativo poder ser prontamente extrusada/granulada, facilitando o processo de formulação do organismo sem geração de resíduos (VASSILEV *et al.*,



2015). Além da escolha de componentes econômicos, a determinação das condições que levam a uma esporulação mais rápida são fatores preponderantes na redução dos custos de produção (JACKSON, 1997). Dessa forma, os objetivos do presente estudo foram avaliar o potencial da farinha de arroz como substrato sólido para o crescimento de *Trichoderma asperelloides*, otimizar as condições de cultivo e selecionar as fontes de nitrogênio que proporcionem o maior rendimento de conídios.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Isolado e manutenção da cultura

O isolado de *Trichoderma asperelloides* (LQC-96) utilizado nos estudos foi obtido da Coleção de Microrganismos de Importância Agrícola e Ambiental (CMMA) da Embrapa Meio Ambiente (Jaguariúna, SP, Brasil), o qual foi isolado de solo no município de Jaguariúna, SP, nas coordenadas 22°43'36" S e 47°00'59" W.

Para a preservação, fragmentos de 5 mm de diâmetro de colônias esporuladas foram colocados em tubos de criopreservação, contendo 1,5 mL de uma solução esterilizada de glicerol a 20% (v/v), e armazenados a -80° C. O inóculo inicial foi obtido a partir da transferência das culturas estoque para placas de Petri (90 x 10 mm, Pleion®) contendo meio de Batata-Dextrose-Agar (BDA) e incubado por sete dias a 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 h em incubadora do tipo BOD.

### 2.2. Otimização da fermentação sólida em farinha de arroz

A otimização da fermentação de *T. asperelloides* na farinha de arroz foi realizada utilizando o delineamento experimental de Plackett-Burman (PBD 12), o qual foi aplicado para estudar o efeito da umidade do substrato (%), densidade de inóculo (conídios g<sup>-1</sup>), volume de substrato (g), tipo de fermentador (sacos de polipropileno e Erlenmeyers de vidro e volume 1 L) e teor de nitrogênio (% peso/peso) (Tabela 1). O delineamento foi composto por 12 ensaios, os quais foram repetidos por três vezes (Tabela 2).

A fermentação foi realizada em Erlenmeyers de 1.000 mL (Uniglas®) e em sacos de polipropileno (35 x 25 cm), os quais foram preenchidos com 100 e 150 g de farinha de arroz e autoclavados a 121 °C e 1,1 kgf cm<sup>-2</sup> de pressão por 20 minutos. Na sequência, em cada tratamento, foi adicionado uma solução esterilizada de ureia (20% C e 46,6% N, Neogen®), ajustada a 1 e 0,1% do peso do substrato em nitrogênio, e a umidade do substrato ajustada a 40 e 60% (Tabela 1).



**Tabela 1.** Valores dos fatores e níveis (baixo e alto) do planejamento experimental Plackett-Burman Design 12 (PBD 12).

Fatores	Código	Níveis	
		-1 (baixo)	+1 (alto)
Umidade (%)	X1	40	60
Densidade de Inóculo (conídios g <sup>-1</sup> )	X2	1 x 10 <sup>5</sup>	1 x 10 <sup>6</sup>
Volume de Substrato (g)	X3	100	150
Fermentador	X4	Saco de polipropileno	Erlenmeyer
Teor de Nitrogênio (%)	X5	0,1	1

Suspensão de conídios foram preparadas a partir de placas de Petri contendo *T. asperelloides* LQC-96 com sete dias de idade adicionando 10 mL de uma solução esterilizada de polisorbato a 0,04% (Tween 80, Synth<sup>®</sup>) seguida pela remoção dos conídios com auxílio de alça de Drigalski. As suspensões de conídios foram calibradas em hemocitômetro e microscópio óptico (Leica Microsystems GmbH<sup>®</sup>), com aumento de 400X, na concentração final de 1 x 10<sup>5</sup> e 1 x 10<sup>6</sup> conídios mL<sup>-1</sup> (Tabela 1).

A avaliação do rendimento de propágulos foi realizada no 14º dia de incubação por meio da coleta de 1 g do substrato fermentado seguido por diluições seriadas e plaqueamento de alíquotas de 100 µL em placas de Petri contendo BDA + 0,1% de Triton X100 (Synth<sup>®</sup>). Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônias g<sup>-1</sup> de substrato (UFC g<sup>-1</sup>) (Tabela 2).

### 2.3. Seleção das fontes de nitrogênio

Após a otimização das condições de cultivo na farinha de arroz, foi avaliado o impacto de diferentes fontes de nitrogênio na formação de propágulos de *T. asperelloides*. Para tanto, os fatores não significativos para a produção de conídios foram mantidos constantes nos níveis que proporcionassem maior economicidade [umidade (40%), densidade de inóculo (1 x 10<sup>5</sup> conídios g<sup>-1</sup> de substrato) e volume de substrato (150 g)], enquanto os fatores significativos foram mantidos constantes nos níveis que proporcionaram maior rendimento de UFC g<sup>-1</sup> de substrato [teor de nitrogênio (0,1%) e fermentador (Erlenmeyer)] (Figura 1). Foram avaliadas cinco fontes de Nitrogênio: milhocina (3,47% N, Ingredion<sup>®</sup>), farinha de algodão (9,4% N, Pharmamedia<sup>®</sup>), sulfato de amônio (21,18% N, Vetec<sup>®</sup>), levedura hidrolisada (6,64% N, Hilyses<sup>®</sup>) e levedura autolisada (8,0% N, Lyscell<sup>®</sup>), calibrados para 0,1% de N g<sup>-1</sup> de substrato. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com quatro repetições e cinco tratamentos.

Após o período de incubação, o número de UFC nas amostras foi determinado, conforme descrito por Pinto, Lucon e Bettiol (2019). Para tanto, 1 g dos substratos colonizados foram



transferidos para tubos de ensaio contendo 9 mL de água destilada autoclavada, realizadas diluições em série, com subsequente plaqueamento de alíquotas de 100 µL em placas de Petri contendo BDA + 0,1% de Triton-X100 (Synth®). Foram realizadas três repetições para cada diluição e as unidades formadoras de colônias foram determinadas após 48 e 72 h de incubação em BOD a  $25 \pm 2$  °C. Os dados foram submetidos a análise variância e comparados pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o Software Minitab®.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Otimização da fermentação sólida em farinha de arroz

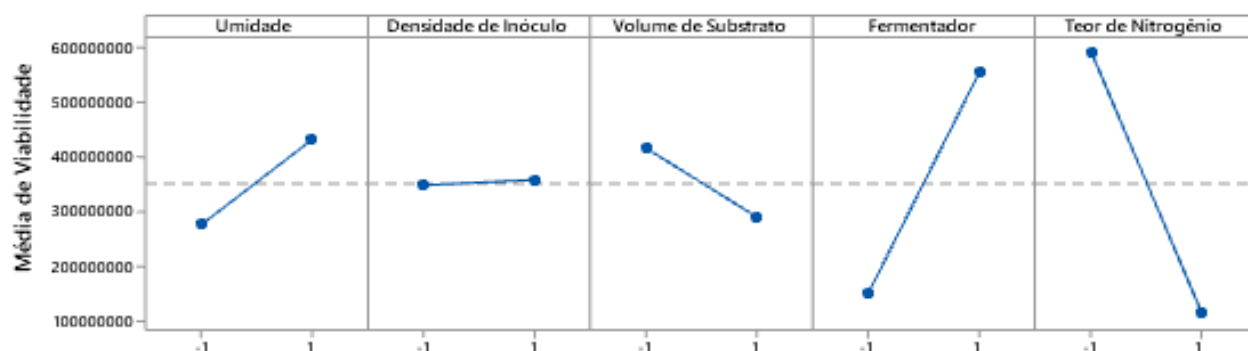
A fermentação de *T. asperelloides* em farinha de arroz apresentou grandes variações de rendimentos de propágulos em função dos diferentes fatores e níveis avaliados. Concentração altamente expressiva, comumente encontrada em processos fermentativos em grãos de arroz, foi observada no ensaio 2 (umidade 60%, inóculo de  $1 \times 10^5$ , 150 g de substrato em Erlenmeyer e 0,1% de nitrogênio) com a produção de  $1,2 \times 10^9$  UFC g<sup>-1</sup> (Tabela 2). Por outro lado, no ensaio 5, com umidade 60%, inóculo de  $1 \times 10^6$ , 100 g de substrato em saco de polipropileno e 1% de nitrogênio, a produção foi de  $6,9 \times 10^5$  UFC g<sup>-1</sup>, não ocorrendo aumento na produção de inóculo (Tabela 2).

**Tabela 2.** Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de *Trichoderma asperelloides* LQC-96 obtidas na fermentação sólida em farinha de arroz: efeito da umidade, densidade de inóculo, volume de substrato, fermentador e teor de nitrogênio.

Ensaio	Fatores					<i>T. asperelloides</i> UFC g <sup>-1</sup>
	X1	X2	X3	X4	X5	
1	1	-1	1	-1	-1	$6,7 \times 10^7$
2	1	1	-1	1	-1	$1,2 \times 10^9$
3	-1	1	1	-1	1	$2,6 \times 10^7$
4	1	-1	1	1	-1	$1,1 \times 10^9$
5	1	1	-1	1	1	$6,9 \times 10^5$
6	1	1	1	-1	1	$1,8 \times 10^7$
7	-1	1	1	1	-1	$3,5 \times 10^8$
8	-1	-1	1	1	1	$8,3 \times 10^7$
9	-1	-1	-1	1	1	$4,7 \times 10^8$
10	1	-1	-1	-1	1	$7,5 \times 10^7$
11	-1	1	-1	-1	-1	$5,0 \times 10^8$
12	-1	-1	-1	-1	-1	$1,9 \times 10^8$

X1 = umidade (%); X2 = densidade de inóculo (conídios g<sup>-1</sup> de substrato); X3 = volume de substrato (g); X4 = fermentador (saco de polipropileno e Erlenmeyer); X5 = teor de nitrogênio (%).

Dos cinco fatores analisados no PBD 12, apenas o tipo de fermentador e o teor de nitrogênio apresentaram diferenças significativas com valores de  $P < 0,018$  e  $< 0,006$ , respectivamente, indicando que somente esses dois fatores foram aqueles que mais influenciaram no rendimento de propágulos (Tabela 3 e Figuras 1 e 2). Para o teor de nitrogênio no substrato, o nível -1 (0,1%) proporcionou os maiores rendimentos médios, enquanto para o tipo de fermentador, o nível +1 (Erlenmeyer) foi o que apresentou os melhores resultados de UFC g<sup>-1</sup> de substrato (Figura 1).

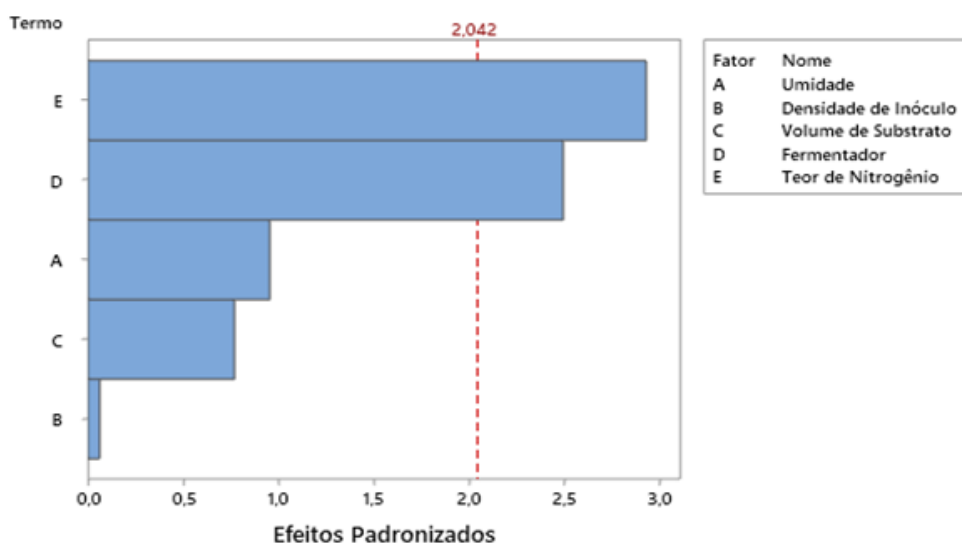


**Figura 1.** Gráfico de efeitos principais da influência dos fatores na produção de propágulos de *Trichoderma asperelloides* LQC-96 em farinha de arroz.

**Tabela 3.** Valores estimados dos efeitos e valores de  $P$  para umidade, densidade de inóculo, volume de substrato, fermentador e teor de nitrogênio, na produção de *Trichoderma asperelloides* LQC-96 em farinha de arroz.

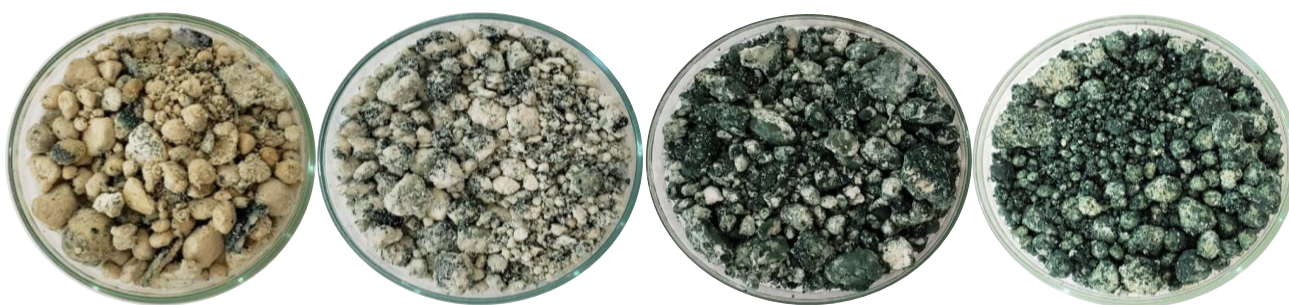
Fator	Efeito	Valor- $P$
Umidade	155632778	0,347
Densidade de Inóculo	10132778	0,951
Volume de Substrato	-125488333	0,447
Fermentador	406710556	0,018
Teor de N	-477733889	0,006





**Figura 2.** Diagrama de Pareto ( $\alpha < 0,05$ ) com os efeitos padronizados dos fatores na produção de propágulos de *Trichoderma asperelloides* LQC-96 em farinha de arroz ( $\text{UFC g}^{-1}$ ).

A otimização das condições de cultivo é um dos mais importantes fatores associados à multiplicação microbiana, sendo o estabelecimento das condições que levam a uma esporulação mais rápida configura em um importante fator na redução dos custos de produção (JACKSON, 1997). De acordo com os resultados obtidos no presente estudo e analisando as diferentes intensidades da cor verde (coloração dos conídios de *T. asperelloides* LQC-96) presentes nos substratos (Figura 3), fica evidente a veracidade de tal afirmação. Além disso, foi demonstrado que a manipulação nutricional e física do ambiente de crescimento pode fornecer propágulos fúngicos infecciosos mais adequados para uso no controle biológico e mais tolerantes a estresses ambientais, incluindo radiação ultravioleta (UV), calor e baixa umidade (JACKSON; SCHISLER, 1992; JACKSON *et al.*, 1997; JACKSON; DUNLAP; JARONSKI, 2010; MASCARIN *et al.*, 2015).



**Figura 3.** Aspecto visual da fermentação de *Trichoderma asperelloides* LQC-96 em farinha de arroz no PBD 12 entre os diferentes ensaios, evidenciando diferentes graus de colonização aos 14 dias de inoculação.



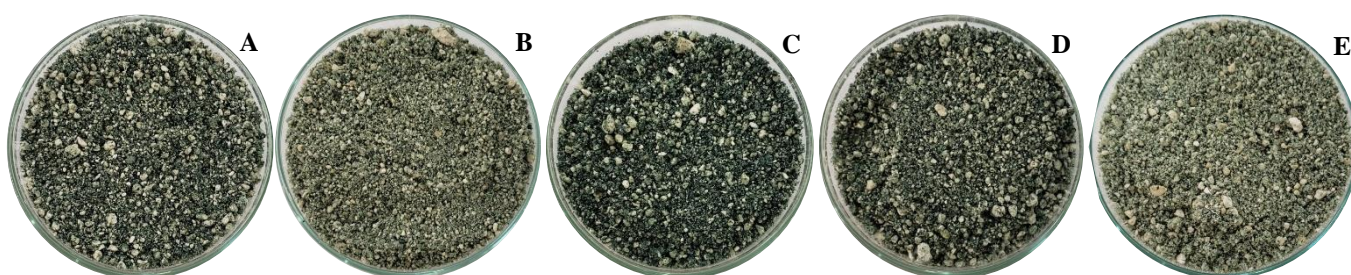
### 3.2. Seleção da fonte de nitrogênio para produção de *Trichoderma asperelloides*

A produção de *T. asperelloides* foi significativamente ( $P < 0,05$ ) influenciada pela adição de diferentes fontes de nitrogênio (Tabela 4), com valores até 10x superiores entre as diferentes fontes de N utilizadas, evidenciando a importância de se estudar as condições nutricionais para a multiplicação microbiana e redução dos custos de produção.

**Tabela 4.** Efeito de diferentes fontes de nitrogênio no número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de *Trichoderma asperelloides* LQC-96 g<sup>-1</sup> de farinha de arroz.

Fonte de N	UFC g <sup>-1</sup> de substrato
<b>Levedura hidrolisada</b>	2,6 x 10 <sup>9</sup> a
<b>Milhocina</b>	2,1 x 10 <sup>9</sup> ab
<b>Levedura autolisada</b>	1,6 x 10 <sup>9</sup> ab
<b>Farinha de algodão</b>	8,7 x 10 <sup>8</sup> bc
<b>Sulfato de amônio</b>	2,6 x 10 <sup>8</sup> c

Entre as fontes de nitrogênio avaliadas, a levedura hidrolisada (2,6 x 10<sup>9</sup> UFC g<sup>-1</sup>), a milhocina (2,1 x 10<sup>9</sup> UFC g<sup>-1</sup>) e a levedura autolisada (1,6 x 10<sup>9</sup> UFC g<sup>-1</sup>) apresentaram os melhores rendimentos de propágulos, diferindo significativamente ( $P < 0,05$ ) da farinha de algodão (8,7 x 10<sup>8</sup> UFC g<sup>-1</sup>) e do sulfato de amônio (2,6 x 10<sup>8</sup> UFC g<sup>-1</sup>) (Tabela 4). O aspecto visual da farinha de arroz ao final do processo fermentativo nas diferentes fontes de nitrogênio avaliadas pode ser observado na Figura 4.



**Figura 4.** Aspecto visual da fermentação de *Trichoderma asperelloides* em farinha de arroz com diferentes fontes de nitrogênio. A) Levedura hidrolisada; B) Milhocina; C) Levedura autolisada; D) Farinha de algodão; E) Sulfato de amônio.



#### 4. CONCLUSÃO

A produção de propágulos de *Trichoderma asperelloides* por fermentação sólida em farinha de arroz foi influenciada pelo teor de nitrogênio e pelo tipo de fermentador, em que o Erlenmeyer e o teor de 0,1% de nitrogênio proporcionaram os maiores rendimentos. A levedura hidrolisada, a milhocina e a levedura autolisada proporcionaram o maior rendimento na produção de propágulos. Esses resultados colaboram com a busca pela ampliação de escala na produção deste agente de biocontrole usando a farinha de arroz e a milhocina, ambos resíduos agroindustriais de baixo custo.

#### 5. AGRADECIMENTOS

Ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC), do Conselho Nacional de Desenvolvimento e Tecnológico (CNPq); à Embrapa Meio Ambiente, pela oportunidade de desenvolvimento da Iniciação Científica; às técnicas e analistas e aos colegas do LMA, pela amizade e suporte durante todo o processo. Wagner Bettiol agradece ao CNPq, pela bolsa de produtividade (CNPq 307855/2019-8). Os estudos foram desenvolvidos com recursos do projeto 20.19.02.006.00.00 da Embrapa.

#### 6. REFERÊNCIAS

BETTIOL, W.; SILVA, J. C.; CASTRO, M. L. M. P. Uso atual e perspectivas do *Trichoderma* no Brasil. In: MEYER M. C., MAZARO S. M., SILVA J. C. (Eds). **Trichoderma: uso na agricultura**. Brasília: EMBRAPA, 2019, p.21-43.

CHAN, E. S. *et al.* Effects of starch filler on the physical properties of lyophilized calcium-alginate beads and the viability of encapsulated cells. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, p. 225-232, 2011.

FARIA, M. R.; WRAIGHT, S. P. Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. **Biological Control**, v. 43, n. 3, p. 237-256, 2007.

FARIA, M. *et al.* Debilitation in conidia of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* and implication with respect to viability determinations and mycopesticide quality assessments. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 105, n. 1, p. 74-83, 2010.

JACKSON, M. A.; SCHISLER, D. A. The composition and attributes of *Colletotrichum truncatum* spores are altered by the nutritional environment. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 58, p. 2260-2265, 1992.

JACKSON, M. A. Optimizing nutritional conditions for the liquid culture production of effective fungal biological control agents. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 19, n. 3, p. 180-187, 1997.

JACKSON, M. A. *et al.* Liquid culture production of desiccation tolerant blastospores of the bioinsecticidal fungus *Paecilomyces fumosoroseus*. **Mycological Research**, v. 101, p. 35-41, 1997.

JACKSON, M. A.; DUNLAP, C. A.; JARONSKI, S. **Ecological considerations in producing and formulating fungal entomopathogens for use in insect biocontrol**. In: ROY, H. E. *et al.* (Eds.). *The ecology of fungal entomopathogens*. Dordrecht: Springer, 2010. p. 129-146.



**15º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2021**  
**01 a 02 de setembro de 2021**  
**ISBN 978-65-994972-0-9**

KLAIC, R. *et al.* Nanocomposite of starch-phosphate rock bioactivated for environmentally-friendly fertilization. **Minerals Engineering**, v. 128, p. 230-237, 2018.

LI, Z. *et al.* Biological control of insects in Brazil and China: history, current programs and reasons for their successes using entomopathogenic fungi. **Biocontrol Science and Technology**, v. 20, n. 2, p. 117-136, 2010.

MARKETS AND MARKETS. Biopesticides Market by Type (Bioinsecticides, Biofungicides, Bionematicides, and Bioherbicides), Source (Microbials, Biochemicals, and Beneficial Insects), Mode of Application, Formulation, Crop Application, and Region - Global Forecast to 2025, 2020. Disponível em: <[https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/biopesticides-267.html?gclid=CjwKCAiA17P9BRB2EiwAMvwNyN1J3IIIag6ewvyHPSndQLQhV5r5rkpbhZIGCAR6Ju61h366uRJ0EhoCov0QAvD\\_BwE](https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/biopesticides-267.html?gclid=CjwKCAiA17P9BRB2EiwAMvwNyN1J3IIIag6ewvyHPSndQLQhV5r5rkpbhZIGCAR6Ju61h366uRJ0EhoCov0QAvD_BwE)>. Acesso em: 29 jun. 2021.

MASCARIN, G. M.; ALVES, S. B.; LOPES, R. B. Culture media selection for mass production of *Isaria fumosorosea* and *Isaria farinosa*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53, n. 4, p. 753-761, 2010.

MASCARIN, G. M. *et al.* Glucose concentration alters dissolved oxygen levels in liquid cultures of *Beauveria bassiana* and affects formation and bioefficacy of blastospores. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 16, p. 6653–6665, 2015.

MASCARIN, G. M. *et al.* Current status and perspectives of fungal entomopathogens used for microbial control of arthropod pests in Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 165, p. 46-53, 2019.

PINTO, Z.; LUCON, C. M. M.; BETTIOL, W. Controle de qualidade de produtos biológicos à base de *Trichoderma*. In: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. da (ed. técnicos). **Trichoderma: uso na agricultura**. Brasília, DF: Embrapa, 2019. p. 275-296.

REBAH, F. B. *et al.* Agro-industrial waste materials and wastewater sludge for rhizobial inoculant production: a review. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 18, p. 3535-3546, 2007.

SCHOEBITZ, M.; SIMONIN, H.; PONCELET, D. Starch filler and osmoprotectants improve the survival of rhizobacteria in dried alginate beads. **Journal of Microencapsulation**, v. 29, p. 532-538, 2012.

TAL, Y. *et al.* Improvement of mechanical and biological properties of freeze-dried denitrifying alginate beads by using starch as a filler and carbon source. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 51, p. 773-779, 1999.

TILMAN, D. *et al.* Agricultural sustainability and intensive production practices. **Nature**, v. 418, n. 6898, p. 671-677, 2002.

WOO, S. L. *et al.* *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. **The Open Mycology Journal**, v. 8, n. 1, 2014.

VASSILEV, N. *et al.* Unexploited potential of some biotechnological techniques for biofertilizer production and formulation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 12, p. 4983-4996, 2015.

VAN LENTEREN, J. C. Benefits and risks of introducing exotic macro-biological control agents into Europe. **EPPO Bulletin**, v. 27, n. 1, p. 15-27, 1997.

VAN LENTEREN, J. C. *et al.* Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. **BioControl**, v. 63, n. 1, p. 39-59, 2018.