



DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO DE *Trichoderma asperelloides* EM PÓ-MOLHÁVEL A PARTIR DE CONÍDIOS PRODUZIDOS EM FARINHA DE ARROZ

Valentina Beltrame **Cardoso**¹; Lucas Guedes **Silva**²; Gabriel Moura **Mascarin**³; Wagner **Bettiol**³

Nº 22412

RESUMO - O controle biológico tem adquirido grande importância no manejo integrado de pragas e doenças. Entretanto, o desenvolvimento de formulações estáveis é um fator de grande importância na oferta e na qualidade de produtos no mercado de bioprotetores. Desse modo, o presente trabalho teve como objetivo estudar o efeito de adjuvantes sobre a viabilidade e a suspensibilidade de conídios de *Trichoderma asperelloides* (LQC-96), em nove formulações pó-molhável desenvolvidas. Os ensaios foram realizados em delineamento inteiramente casualizado. As formulações que apresentaram maior suspensibilidade foram as contendo caulim (20,4 g e 15,2 g), Vanisperse (1,6 g e 4,8 g) e Break-Thru (2 g) ou lecitina de soja (4 g). No entanto, apesar da melhor porcentagem de suspensibilidade, essas formulações não atingiram o nível de 60% do princípio ativo suspenso recomendado. Por outro lado, não foram observadas diferenças na viabilidade dos esporos 30 dias após a montagem das formulações. Esses estudos sugerem que há necessidade de aprimoramento das formulações para aumentar a viabilidade dos esporos e a suspensibilidade de *Trichoderma asperelloides*.

Palavras-chave: Antagonista, biofungicida, bioprotetor, biocontrole.

¹Graduanda em Engenharia Agrônômica, Bolsista CNPq (PIBIC), ESALQ/USP, Piracicaba-SP; vbeltramec@gmail.com

²Doutorando em Proteção de Plantas, Unesp/FCA, Bolsista CAPES, Botucatu-SP; lucasguedess.agro@gmail.com

³Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP; gabriel.mascarin@embrapa.br; wagner.bettiol@embrapa.br.



ABSTRACT - *Biological control has acquired great importance in the integrated management of pests and diseases. However, the development of stable formulations is a major factor in the supply and quality of these products in the bioprotective market. Thus, we study the effect of adjuvants on the conidia of Trichoderma asperelloides LQC-96 on the viability and suspensibility, in nine wettable-powder formulations. The assays were carried out in a completely randomized design. The formulations that showed the highest suspensibility were those containing kaolin (20.4 g and 15.2 g), Vanisperse (1.6 g and 4.8 g) and Break-Thru (2 g) or soy lecithin (4 g). However, despite the better percentage of suspensibility, these formulations did not reach the level of 60% of the suspended active ingredient recommended. On the other hand, no differences were observed in spore viability 30 days after assembly of the formulations. These studies suggest that there is a need to improve the formulations to increase spore viability and suspensibility of Trichoderma asperelloides.*

Keywords: Antagonist, biofungicide, bioprotector, bioagent.

1. INTRODUÇÃO

A população mundial deve crescer em 2 bilhões de pessoas nos próximos 30 anos, atingindo 9,7 bilhões em 2050 (ONU, 2019, 2022). Assim, o desafio de garantir alimentos e recursos energéticos, além de uma diversidade de matérias-primas e produtos, ambos provenientes de plantas, cresce constantemente. Além disso, há a necessidade de se garantir a sustentabilidade dos agroecossistemas. Os bioinsumos têm se destacado como uma opção tecnológica eficiente e econômica, para o manejo integrado de pragas e doenças (VAN LENTEREN, 1997; VAN LENTEREN *et al.*, 2018). Dentre os bioinsumos, os bioprotetores utilizados para o controle de doenças e pragas são os que vêm recebendo grande destaque (MAZARO *et al.*, 2022). No Brasil, a área tratada com bioprotetores ou biopesticidas foi superior a 33 milhões de hectares em 2017 (BUENO *et al.*, 2020), contudo a estimativa é que tenha atingido mais de 50 milhões de hectares em 2021, se tornando o país com a maior área sob controle biológico do mundo (BETTIOL *et al.*, 2022).

As estimativas projetam que o mercado global de biopesticidas atingirá US\$ 8,5 bilhões em 2025 com uma taxa composta anual de crescimento de 14,7 % (MARKETS&MARKETS, 2020). Em relação ao mercado brasileiro, segundo a CropLife (2021) o mercado nacional em 2021 foi de R\$ 1,8 bilhão, representando um crescimento de 33% em relação ao ano de 2020. Destaque para os bionematicidas que ocupam o primeiro lugar no mercado de bioprotetores no país (MAZARO *et al.*, 2022). Contudo, o crescimento do mercado depende da disponibilização de produtos com vida de prateleira adequada, sendo fundamental realizar estudos com a multiplicação dos bioagentes, bem



como o desenvolvimento de formulações com esses organismos (FARIA *et al.*, 2010; MAZARO *et al.*, 2022).

Para o controle de doenças de plantas, espécies do gênero *Trichoderma* estão entre as mais importantes no momento (MEYER *et al.*, 2019). Os bioprodutos à base de *Trichoderma* são utilizados com sucesso no controle de fitopatógenos de solo em culturas importantes como soja, feijão, algodão e milho para o controle de *Sclerotinia*, *Sclerotium*, *Fusarium*, *Pythium*, *Phytophthora* e *Rhizoctonia* entre outros (BETTIOL *et al.*, 2019ab).

No Brasil, produtos à base de *Trichoderma* são produzidos exclusivamente via fermentação sólida ou bifásica. Na fermentação sólida, grãos de arroz são majoritariamente utilizados como substrato e realiza-se a incubação em sacos 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). Na fermentação bifásica, o inóculo é inicialmente produzido em cultura líquida e, em seguida, transferido para os grãos de arroz para a produção de conídios (MASCARIN *et al.*, 2019).

Dentre os substratos economicamente atraentes, os amiláceos são abundantes, não tóxicos, biodegradáveis, de fácil manuseio e processamento e de baixo custo, podendo ser utilizados na multiplicação de bioagentes (KLAIC *et al.*, 2018). Além disso, são capazes de melhorar a viabilidade e a vida útil dos microrganismos formulados graças ao seu suporte estrutural (TAL *et al.*, 1999, CHAN *et al.*, 2011, SCHOEBITZ *et al.*, 2012). A farinha de arroz destaca-se como um promissor substrato para a produção de *Trichoderma* spp., como demonstrado por Camargo *et al.* (2021), devido à sua composição muito similar à do arroz branco polido, e à possibilidade de ser extrusada/granulada ao final do processo fermentativo, facilitando o processo de formulação do organismo sem geração de resíduos (VASSILEV *et al.*, 2015).

Somado a isso, a compatibilidade entre o agente de biocontrole *Trichoderma* spp. e as matérias-primas químicas adicionadas durante o processo de formulação é imperativa para o desenvolvimento de formulações estáveis e com vida de prateleira adequada, responsáveis por garantir a sobrevivência destes agentes e proporcionar melhor viabilidade, crescimento e reprodução destes microrganismos. A formulação pó-molhável (em inglês *wetable powder*, WP) é obtida por meio da adição de matérias-primas denominadas adjuvantes, isto é, substâncias adicionadas à formulação para aumentar a eficiência do produto ou modificar determinadas propriedades, visando facilitar a aplicação e aumentar a vida de prateleira (VARGAS; ROMAN, 2006). O Caulim (Synth®, Diadema, SP, Brasil), o Vanisperse CB® (Borregaard®, Sarpsborg, Noruega), o Break-Thru SD260® (Evonik®, Essen, Alemanha) e a lecitina de soja (Quimisul® SC, Joinville, SC, Brasil) são adjuvantes do tipo surfactantes com propriedades de adsorvente, dispersante, espalhante e emulsificante/estabilizante,



respectivamente, responsáveis por melhorar o desempenho das formulações pó-molhável à base de *Trichoderma* spp.

O objetivo do presente estudo foi avaliar o potencial dos adjuvantes/surfactantes como matérias-primas compatíveis com o agente de biocontrole *Trichoderma asperelloides*, a fim de selecionar a formulação pó-molhável mais estável e com vida de prateleira adequada para uso como produto agrícola eficaz no controle de fitopatógenos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Isolado de *Trichoderma asperelloides*

Para a realização do experimento foi utilizado o isolado de *Trichoderma asperelloides* LQC-96 (BRM 065723, GenBank ON542481) obtido junto à Coleção de Microrganismos de Importância Agrícola e Ambiental (CMMA) da Embrapa Meio Ambiente, localizada em Jaguariúna, SP, Brasil. O inóculo inicial foi obtido a partir da transferência das culturas estoque de *T. asperelloides* (LQC-96) para placas de Petri (90 x 10 mm, Pleion®), contendo meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA), e incubado por sete dias a 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12:12 h em incubadora do tipo BOD.

2.2 Fermentação sólida em farinha de arroz

A produção massal de *T. asperelloides* (LQC-96) foi realizada em farinha de arroz e em condições otimizadas de acordo com Camargo *et al.* (2021). Em Erlenmeyers de 1.000 mL (Pyrex®, Corning, SP, Brasil) foram adicionados 200 g de farinha de arroz seca, acrescidos de 3 g de levedura hidrolisada (6,64% N, Hylises®, ICC Industrial Comércio, Exportação e Importação Ltda., São Paulo, SP, Brasil), e estes autoclavados a 121 °C e 1,1 kgf.cm⁻² de pressão por 20 minutos.

Suspensões de conídios foram preparadas com placas de Petri de 7 dias de idade a partir da adição de 10 mL de uma solução esterilizada de polisorbato 80 a 0,04% de Tween 80 (Synth®, Diadema, SP, Brasil) seguida pela remoção dos conídios com uma alça de Drigalski. A suspensão de conídios foi calibrada em hemocitômetro e microscópio óptico com contraste de fase (DM 500, Leica Microsystems GmbH®, Alemanha) e aumento de 400X, para obter uma concentração final de 1×10^6 conídios g⁻¹ de substrato. Na sequência, a umidade do substrato foi ajustada para 40% (p/p) e os Erlenmeyers de 1.000 mL (Pyrex®, Corning, SP, Brasil) contendo a farinha de arroz seca, a levedura hidrolisada e a suspensão de conídios de *T. asperelloides* (LQC-96) foram incubados por 14 dias a temperatura ambiente (25 ± 2 °C) e fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 de escuro.

2.3 Formulação em pó-molhável



Transcorrido o período de incubação, os substratos fermentados e colonizados por *T. asperelloides* (LQC-96) foram dispostos em bandejas de polipropileno e secos em uma capela de exaustão (Vidy®, Taboão da Serra, SP, Brasil), equipada com três micromotores exaustores (Elco do Brasil®, Taboão da Serra, SP, Brasil) a 25 cm de distância das bandejas, até atingirem 5% de umidade, determinada com um analisador de umidade (ID-200, Marte Científica®, São Paulo, SP, Brasil). Após a secagem, a biomassa obtida foi utilizada para a preparação das formulações em pó-molhável, misturando-a aos adjuvantes Caulim (Synth®, Diadema, SP, Brasil), Vanisperse CB® (Borregaard®, Sarpsborg, Noruega), Break-Thru SD260® (Evonik®, Essen, Alemanha) e lecitina de soja (Quimisul® SC, Joinville, SC, Brasil) nas composições indicadas na Tabela 1. Após a homogeneização da biomassa com os adjuvantes, as formulações foram embaladas em sacos de polietileno (15 × 20 cm) com embaladora a vácuo (Cetro® DZ 240, Bauru, SP, Brasil) e armazenadas em geladeira a 4°C.

2.4 Viabilidade das formulações

A avaliação do efeito dos adjuvantes sobre a viabilidade das formulações foi realizada logo após o preparo de cada formulação (tempo zero) e mensalmente durante todo o período de armazenamento. Amostras de 1 g de cada formulação foram transferidas para tubos de ensaio contendo 9 mL de solução esterilizada de polisorbato 80 a 0,04% de Tween 80 e diluídas em séries, com subsequente plaqueamento de 100 µL em placas de Petri contendo BDA + 0,1% de Triton X-100 (Synth®, Diadema, SP, Brasil), sendo realizadas seis repetições para cada formulação. As placas foram mantidas por 48 a 72 horas a 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 h. Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônias por grama de produto formulado (UFC g⁻¹) (Tabelas 2 e 3).



Tabela 1. Composição dos ingredientes das diferentes formulações em pó-molhável de *Trichoderma asperelloides* (LQC-96).

Formulação	Matérias-primas				
	Farinha de arroz (g)	Caulim (g)	Vanisperse CB® (g)	Break-Thru SD260®	Lecitina de soja (g)
1	56	24	-	-	-
2	56	15,2	4,8	4	-
3	56	17,2	4,8	2	-
4	56	18,4	1,6	4	-
5	56	20,4	1,6	2	-
6	56	11,2	4,8	-	8
7	56	15,2	4,8	-	4
8	56	14,4	1,6	-	8
9	56	18,4	1,6	-	4

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com seis repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e comparados pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) e as análises estatísticas foram realizadas utilizando o Software OriginLab®.

2.5 Suspensibilidade das formulações

A suspensibilidade das formulações foi avaliada de acordo com COLLABORATIVE INTERNATIONAL PESTICIDES ANALYTICAL COUNCIL (1970ab). Para tal, cada amostra de 1 g dos produtos formulados foi transferida para um Becker contendo 50 mL de água dura padrão, seguido de agitação por 2 min. Na sequência, a amostra foi transferida para uma proveta de 250 mL, à qual foi adicionada água dura padrão até atingir o volume de 250 mL. A proveta foi invertida 30 vezes e mantida em repouso por 30 min para a decantação do produto formulado não suspenso. Por fim, os 225 mL superiores de cada proveta foram removidos com uma bomba de vácuo e os 25 mL restantes foram filtrados em filtro de papel Whatman nº 1 e secos em estufa de circulação forçada de ar a 85 °C até peso constante. A suspensibilidade de cada formulação foi calculada pela seguinte equação:



$$S_w(\%) = \frac{250}{225} \times \frac{100 \times W_0 - W}{W_0}$$

Onde S_w é a suspensibilidade (%) obtida pelo método gravimétrico, W é o peso seco dos 25 mL residuais (g) e W_0 é o peso da amostra avaliada (g).

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e comparados pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) e as análises estatísticas foram realizadas utilizando o Software OriginLab®.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Avaliação da viabilidade das formulações pó-molhável de *Trichoderma asperelloides*

Os resultados sobre a viabilidade das formulações são apresentados na Tabela 2. A viabilidade de *T. asperelloides* (LQC-96), em cada formulação pó-molhável, representada em unidades formadoras de colônias por grama de produto formulado (UFC g⁻¹), apresentou variações logo após o preparo das formulações, isto é, no tempo zero, e 30 dias após tal procedimento. No tempo zero as formulações pó-molhável número 2 e 5 apresentaram viabilidade maior que as formulações 7, 8 e 9 (Tabela 2). A formulação 5 é composta pela maior massa de Caulim e pelas menores massas de Vanisperse CB® e Break-Thru SD260® utilizadas no preparo, sendo desprovida de lecitina de soja. Por outro lado, após 30 dias a formulação 5 apresentou viabilidade estatisticamente maior que a formulação 1 (Tabela 2).

Uma vez que o Caulim é descrito como um adjuvante biocompatível com fungos e responsável por ser eficiente carreador do agente microbiológico de biocontrole (LIU *et al.*, 2014), a sua presença em maior concentração na formulação pode ter sido o responsável por proporcionar maior viabilidade do *T. asperelloides* (LQC-96), e conseqüentemente, melhor crescimento e reprodução deste microrganismo quando em formulação pó-molhável.

3.2 Avaliação da suspensibilidade das formulações pó-molhável de *Trichoderma asperelloides*

A suspensibilidade de cada formulação de *T. asperelloides* (LQC-96) em pó-molhável, representada em porcentagem de matéria seca, apresentou variações. As formulações 5 e 7 apresentaram diferenças significativas com valor de $P < 0,05$, destacando-se como as com melhor suspensibilidade do princípio ativo quando comparadas com as demais formulações (Tabela 3), contudo sem diferir estatisticamente das formulações 8, 6 e 9. Como descrito anteriormente, a



formulação 5 é composta pela maior massa de Caulim e pelas menores massas de Vanisperse CB® e Break-Thru SD260® utilizadas no preparo, sendo desprovida de lecitina de soja. Já a formulação 7 é composta pela segunda menor massa de Caulim, pela maior massa de Vanisperse CB® e pela menor massa de lecitina de soja utilizadas no preparo, sendo desprovida de Break-Thru SD260®.

Tabela 2. Viabilidade de *Trichoderma asperelloides* (LQC-96) de cada formulação pó-molhável, descritas na Tabela 1.

Formulação	Viabilidade (UFC* g ⁻¹) tempo zero**	Viabilidade (UFC g ⁻¹) 30 dias após
1	4,63 x 10 ⁷ ab	1,78 x 10 ⁷ b
2	6,58 x 10 ⁷ a	4,20 x 10 ⁷ ab
3	5,37 x 10 ⁷ ab	4,23 x 10 ⁷ ab
4	4,77 x 10 ⁷ ab	4,17 x 10 ⁷ ab
5	7,22 x 10 ⁷ a	3,33 x 10 ⁷ a
6	3,93 x 10 ⁷ ab	3,18 x 10 ⁷ ab
7	3,12 x 10 ⁷ b	4,32 x 10 ⁷ ab
8	3,23 x 10 ⁷ b	3,13 x 10 ⁷ ab
9	3,07 x 10 ⁷ b	4,53 x 10 ⁷ ab

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

* Unidades Formadoras de Colônias (UFC)

** logo após o preparo

As formulações pó-molhável 5 e 7, que apresentaram a melhor suspensibilidade, continham os adjuvantes responsáveis por garantir que o formulado permaneça suspenso quando dissolvido em água dura, visto que o Caulim é um carreador biocompatível com *T. asperelloides* (LQC-96), o Vanisperse CB proporciona o controle da reologia e inibição do crescimento de cristais na formulação, estabilizando sua dispersão (BORREGAARD, 2022). Na formulação 5, o Break-Thru SD260® combina a adesão e retenção dos surfactantes/espalhantes com propriedades umectantes (EVONIK, 2022). Por outro lado, na formulação 7, a lecitina de soja age como tensoativo/emulsificante promovendo a dissolução do pó (GAVA, 1999) e garante uma melhor condutividade elétrica do formulado (SANTOS, 2019). No entanto, ambas as formulações – 5 e 7 - não apresentaram valor de suspensibilidade igual ou superior a 60%, recomendado pelo CIPAC (Conselho Colaborativo Analítico Internacional de Pesticidas, em inglês *Collaborative International*



Pesticides Analytical Council) e pelo SDSV (Sistema de Defesa Sanitária Vegetal) para certificação e registro do produto como defensivo agrícola de controle biológico (NEVES *et al.*, 1991).

Tabela 3. Suspensibilidade de cada formulação pó-molhável de *Trichoderma asperelloides* LQC-96 no tempo zero.

Formulação*	Suspensibilidade (%)
1	29,72c
2	35,27bc
3	35,83bc
4	35,27bc
5	45,00a
6	39,72ab
7	45,00a
8	40,55ab
9	37,77abc

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

* Numeração conforme Tabela 1

4. CONCLUSÃO

A viabilidade e a suspensibilidade das formulações pó-molhável de *T. asperelloides* (LQC-96) foram influenciadas por todos os adjuvantes testados. Os resultados obtidos indicaram que a formulação que utilizou a maior massa de Caulim e as menores massas de Vanisperse CB® e Break-Thru SD260®, sem lecitina de soja, foi a que apresentou a maior viabilidade dos conídios de *T. asperelloides* (LQC-96). Em relação à suspensibilidade, apesar de promissora, as formulações que apresentaram melhor resultado não atingiram o valor recomendado pelo CIPAC e SDSV para certificação e registro do produto como biodefensivo, tornando-se necessário o aprimoramento da composição destas formulações.



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 Laboratório de Microbiologia Ambiental, 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. Pesquisa, desenvolvimento e inovação com bioinsumos. MEYER, M. C. *et al.* (ed.). **Bioinsumos na cultura da soja**. Embrapa, 2022. p.21-38.

BETTIOL, W. *et al.* **Produtos comerciais à base de agentes de biocontrole de doenças de plantas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2012. 155 p. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 88).

BETTIOL, W. *et al.* Produtos comerciais à base de *Trichoderma*. In: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. da. (ed.). **Trichoderma: uso na agricultura**. Brasília, DF: Embrapa, 2019a. p 45–179.

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. (Ed.) **Trichoderma: uso na agricultura**. Embrapa, 2019b. p. 21-43.

BORREGAARD. **Vanisperse CB performance in SC formulations**. Disponível em: <https://www.borregaard.com/markets/agriculture/applications/crop-protection/applications/liquid-formulations/products/sc-and-fs-formulations/performance-data/vanisperse-cb-performance-in-sc-formulations/>. Acesso em: 08 jun. 2022.

BUENO, V. H. P. *et al.* Biological control in Brazil. In: VAN LENTEREN, J. C. *et al.* **Biological control in Latin America and the Caribbean: its rich history and bright future**. Wallingford: CAB, 2020. p.78-107.

CAMARGO, R. C.; SILVA, L. G.; MASCARIN, G. M.; BETTIOL, W. Otimização da produção de *Trichoderma asperelloides* por fermentação sólida em farinha de arroz. In: CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 15., 2021, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto de Zootecnia, 2021. RE21416. 11 p.

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.

COLLABORATIVE INTERNATIONAL PESTICIDES ANALYTICAL COUNCIL. **MT 15: The suspensibility of wettable powder in water**. Hertfordshire, UK: CIPAC, 1970a.

COLLABORATIVE INTERNATIONAL PESTICIDES ANALYTICAL COUNCIL. **MT 18: Standard Water**, Hertfordshire, UK: CIPAC, 1970b.

CROPLIFE. **Cresce a adoção de produtos biológicos pelos agricultores brasileiros**. Notícias, 03 jul. 2021. Disponível em: <<https://croplifebrasil.org/noticias/cresce-a-adocao-de-produtos-biologicos-pelos-agricultores-brasileiros>>. Acesso em: 08 jan. 2022.



EVONIK. **Technology for agriculture: new products**. 2022. Disponível em: <<https://www.break-thru.com/en/products/new-products>>. Acesso em: 10 jun. 2022.

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.

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.

GAVA, A. J. **Princípios de tecnologia de alimentos**. São Paulo: Nobel, 1999. 277 p.

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.

LIU, J. *et al.* Development of a freeze-dried fungal wettable powder preparation able to biodegrade chlorpyrifos on vegetables. **PLoS ONE**, v. 9, n. 7, e103558, 2014.

MARKETS&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**. June 2020.

MASCARIN, G. M.; LOPES, R. B.; DELALIBERA JÚNIOR, I.; FERNANDES, E. K. K.; LUZ, C.; FARIA, M. 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.

MAZARO, S. M. *et al.* Antagonistic fungi against plant pathogens for sustainable agriculture. In: RAJPAL, V. R. (Ed.) **Fungal diversity, ecology and control** management. Singapura: Springer Nature, 2022. p. 607-637. DOI: https://doi.org/10.1007/978-981-16-8877-5_29.

MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. da. (ed.). **Trichoderma: uso na agricultura**. Brasília, DF: Embrapa, 2019. 536 p.

NEVES, R. C. P. O.; MEDUGNO, C. C.; CASTRO, M. L. Avaliação de métodos físicos de suspensibilidade para formulações de defensivos agrícolas. **Pesticidas Revista Técnico Científica**, v. 1, n. 1, p.1-12, 1991.

ONU. População mundial deve ter mais 2 bilhões de pessoas nos próximos 30 anos. **ONU News: Perspectiva Global Reportagens Humanas**, 17 jun. 2019. Disponível em: <<https://news.un.org/pt/story/2019/06/1676601>>. Acesso em: 10 jun. 2022.

ONU. Department of Economic and Social Affairs. Population division. **World population prospects 2022**. Disponível em: <<https://population.un.org/wpp/>>. Acesso em: 10 jun. 2022.

SANTOS, C. A. M. **Influência da chuva na eficácia de *Bacillus thuringiensis* associado a adjuvantes no controle de *Spodoptera frugiperda* em algodão**. 2019. Tese (Doutorado) - Faculdade e de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal.

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.; RIJN, J. V.; NUSSINOVITCH, A. 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.

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.

VARGAS, L.; ROMAN, E. S. Conceitos e aplicações dos adjuvantes. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2006. 10 p. html. Publicação Online. (Embrapa Trigo. Documentos Online, 56).

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.