

Métodos de inoculação e virulência de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. a *Cosmopolites sordidus* (Germar) (Coleoptera:Curculionidae) em laboratório

Inoculation methods and virulence of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. to *Cosmopolites sordidus* (Germar) (Coleoptera:Curculionidae) in laboratory

Ernesto Antonio Lema López^{1*}; Pedro Manoel Oliveira Janeiro. Neves²; Vaneide Pimenta Almeida³; Giovanni Tamiozzo⁴; Marilene Fancelli⁵

Resumo

A pesquisa teve o objetivo de avaliar distintos métodos de inoculação de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. em adultos de *Cosmopolites sordidus* (Germar) em condições de laboratório para utilização em bioensaios de seleção de isolados. Suspensões de conídios do isolado UEL151 foram aplicadas nos insetos através dos seguintes métodos: pulverização, imersão, tópica dorsal e tópica ventral. Em todos os métodos de inoculação obtiveram-se baixos valores de mortalidade total e confirmada, com valor máximo para a imersão dos insetos (21,7%) aos 37 dias após a aplicação (DAA), o qual foi significativamente maior ao resto dos métodos. Verificou-se que a avaliação deve ser de no máximo 22 DAA nas condições deste experimento, já que a taxa de esporulação (mortalidade confirmada/mortalidade total) diminuiu com o tempo em todos os métodos, com valores de 95,8 e 75,3%, aos 22 e 37 daa, respectivamente no caso da imersão. Os métodos de inoculação tópica dorsal e ventral não causaram virulência significativa de *C. sordidus* com *B. bassiana*, pelo que se precisam pesquisar os mesmos, com diferentes concentrações do fungo as usadas neste ensaio.

Palavras-chave: Controle biológico, fungo entomopatogênico, bioensaio

Abstract

The research aimed to assess different inoculation methods of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. on *Cosmopolites sordidus* (Germar) adults, in laboratory conditions on an isolates selection bioassay. Conidial suspensions of UEL151 strain were applied on insects through the following methods: spray, immersion, dorsal and ventral topical. Low mortalities were achieved for all inoculation methods, with a higher value for immersion (21.7%) at 37 days after application (DAA), as the rest of methods were significantly lower. The evaluation must be extended to a maximum of 22 DAA because the sporulation rate (confirmed mortality / total mortality) decreased with time in all methods, with values of 95.8 and 75.3%, at 22 and 37 DAA, respectively, on the immersion method. Dorsal and ventral topical methods caused not significant *C. sordidus* virulence, so new tests are necessary with different fungus concentrations.

Key words: Biological control, entomopathogenic fungi, bioassay

¹ Eng. Agrônomo, Estudante Mestrado em Agronomia/Entomologia/Controle Microbiano de pragas, Bolsista do CNPq-Brasil. E-mail: lema.ernesto@gmail.com

² Eng Agrônomo, Doutor em Entomologia/Controle Microbiano de Insetos, Bolsista Produtividade do CNPq. Professor associado da Universidade Estadual de Londrina. E-mail: pedroneves@uel.br

³ Eng. Agrônomo. E-mail: vaneidepimenta@hotmail.com

⁴ Aluno de agronomia. Estagiário PIBIC. E-mail: gio_tamiozzo@hotmail.com

⁵ Eng Agrônomo, Doutor em Entomologia/ Pesquisadora da Embrapa – Centro Nacional de Pesquisas de Mandioca e Fruticultura. E-mail:fancelli@cnpmf.embrapa.br

* Autor para correspondência

Introdução

A broca-do-rizoma, *Cosmopolites sordidus* (Germer) (Coleoptera: Dryophthoridae), é a principal praga da banana, sendo encontrada em todas as regiões produtoras (ROBINSON, 2003; ALVES et al., 2008). Diversos estudos de virulência têm demonstrado o controle biológico desta praga com isolados do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (ALVES, 1998; FANCELLI; MESQUITA, 1998; PRANDO; FERREIRA, 2004), mas existe dificuldade ao se comparar os resultados destes estudos devido à grande diversidade de métodos e condições utilizadas (GOLD; PEÑA; KARAMURA, 2001).

Os fatores que variam na avaliação da virulência incluem modo de inoculação, número de insetos utilizados, viabilidade do patógeno, concentrações de conídios, período e modo de avaliação e mortalidade considerada (total, confirmada e corrigida) (GOLD; PINESE; PEÑA, 2002; SANTORO et al., 2007), portanto é preciso definir técnicas apropriadas de bioensaios, para selecionar isolados altamente virulentos, com características adequadas para serem utilizados como inseticidas microbianos (ALVES et al., 2003).

Considerando que *B. bassiana* infecta os insetos pela superfície do tegumento (BOUCIAS; PENDLAND, 1998), a variabilidade entre os resultados dos distintos bioensaios depende grandemente do local, no corpo do inseto, em que o fungo é aplicado, e do tempo e modo de contato (SANTORO et al., 2007).

Os métodos de inoculação ou aplicação mais utilizados são: pulverização sobre o inseto (NEVES; HIROSE, 2005; TALAEI-HASSANLOUI et al., 2007; FAN et al., 2007); mergulho ou imersão dos insetos em suspensão de fungo (ALMEIDA et al., 2009); tratamento da superfície (solo ou folha) com a suspensão de conídios (SHAPIRO-ILAN et al., 2002; MOSLIM et al., 2004) e aplicação tópica com ou sem anestesia dos insetos (LOPES; ALVES, 2005).

Assim, o objetivo deste trabalho foi comparar diferentes métodos de inoculação de *B. bassiana* em insetos adultos de *C. sordidus* com a finalidade de dar suporte a estudos de seleção de isolados de *B. bassiana* para o controle desta praga.

Material e métodos

Obtenção dos insetos

Insetos adultos de *C. sordidus* de diferentes idades e sexo, foram coletados com armadilhas “pitfall” durante os meses de junho e julho em uma plantação comercial de banana variedade “Grand Naine” de 4 anos de idade, na localidade de Ibiporã, Paraná, PR (23° 16’ S, 51° 02’ O, e altitude de 497 m).

As armadilhas foram fabricadas com garrafas PET de 2 L, com pedaços de pseudocaule de bananeira e perfuradas no fundo para o drenagem. No terço superior foram cortadas formando duas aberturas opostas entre as quais se pendurou com arame o feromônio para *C. sordidus* (Cosmolure®). As armadilhas foram enterradas no solo deixando a borda das duas aberturas na altura do solo para permitir o ingresso dos insetos e a difusão do feromônio. Finalmente foram protegidas com folhas de banana para impedir danos pela chuva, radiação e favorecer um ambiente com mais sombreamento ao inseto.

Os insetos foram coletados semanalmente e mantidos em quarentena em laboratório em caixas plásticas de 5,5 L, com tampa de rede de polietileno e pedaços de pseudocaule de bananeira como alimento. O pseudocaule foi trocado a cada 4 dias e as caixas mantidas em câmara BOD (23±1 °C, 24 horas escotofase) até o momento de realização dos bioensaios por um tempo não superior aos 60 dias.

Isolado de *B. bassiana*

Foi utilizado o isolado UEL 151 previamente selecionado como o mais virulento para *C. sordidus*

em bioensaios, com a imersão de 40 insetos adultos por 60 segundos, em suspensões de diferentes isolados de *B. bassiana*, com concentração de 1×10^9 conídios/mL, sendo os insetos mortos colocados individualmente em câmara úmida para confirmação da mortalidade pelo fungo entomopatogênico.

Para recuperar a capacidade infectiva do isolado UEL 151, insetos adultos e sádios de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) foram imersos por 30 segundos em uma suspensão de conídios (1×10^8 /mL) produzidas em meio BDA (VELEZ et al., 1997). Após a morte, os insetos foram lavados com uma solução de hipoclorito de sódio (1%) por 30 segundos e colocados individualmente em câmara úmida. Após a conidiogênese os conídios do isolado foram repicados duas vezes em placa Petri com meio de cultura BDA e mantidos durante 10 dias em câmara B.O.D. ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, fotofase de 12 horas). Assim produzidos foram armazenados, por um tempo não superior a 15 dias, a $-4 \pm 2^\circ\text{C}$, até

a utilização nos bioensaios. Foram utilizados nos experimentos apenas conídios de segunda repicagem e que apresentaram germinação acima de 95%.

Bioensaio

O isolado UEL 151 obtido conforme descrito foi inoculado em placas de Petri com meio completo (ALVES, 1998), e mantido por 10 dias em incubação ($25 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotofase de 12 horas). Posteriormente os conídios foram recuperados, suspensos em água estéril com espalhante adesivo (Tween 20 a 0,02% v/v), quantificados em câmara de Neubauer e padronizados na concentração de 1×10^9 conídios/mL.

No bioensaio foram testados diferentes métodos de inoculação do fungo sobre insetos adultos de *C. sordidus* (Tabela 1). O delineamento foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e seis repetições de 40 insetos cada uma.

Tabela 1. Metodologias de inoculação utilizadas no bioensaio de virulência do isolado de *B. bassiana* UEL 151 em insetos adultos de *C. sordidus* com suspensão de 1×10^9 conídios/mL.

TRATAMENTO	
Pulverização	Aplicação de 0,5 mL de suspensão de conídios com pulverizador Airbrush®, acoplado a um compressor/aspirador Fanen-Diapump sobre os insetos acondicionados numa placa Petri.
Imersão	Imersão dos insetos em 15 mL de suspensão de conídios por 60 segundos.
Tópica dorsal	Aplicação dorsal de 4 μ L de suspensão de conídios com pipeta “Pipetman P2”.
Tópica ventral	Aplicação ventral de 4 μ L de suspensão de conídios com pipeta “Pipetman P2”.
Testemunha	Sem aplicação

Obs.: Em todos os tratamentos de aplicação os conídios foram suspensos numa solução aquosa de Tween 20 a 0,02% (v/v)

Os insetos tratados foram acondicionados em caixas gerbox de acrílico (11 x 11 x 3,5 cm) e alimentados com pedaços de pseudocaule de bananeira trocados semanalmente. As caixas foram mantidas em câmara B.O.D. ($25 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotofase de 12 horas).

As avaliações de mortalidade total observada

(MT) foram realizadas a cada dois dias por um período de 37 dias. Os insetos mortos foram lavados em solução de hipoclorito (1%) e acondicionados em câmara úmida ($25 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotofase de 12 horas) por 10 dias, para a confirmação da mortalidade pelo fungo (MC). A mortalidade confirmada foi corrigida em relação à testemunha, pela fórmula de Shneider e Orelli (NAKANO; SILVEIRA; ZUCCHI, 1981).

Os dados foram transformados em $\arcsen \sqrt{x}/100$ e submetidos à análise de variância, e posteriormente as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância, utilizando o programa estatístico SISVAR, versão 5.0.

A taxa de esporulação ou confirmação, correspondente à porcentagem dos insetos mortos pelo fungo em relação à mortalidade total observada $(MC/MT) \times 100$, foi calculada para cada data de avaliação com os dados de MC e MT acumulados em cada uma delas. A data de avaliação com a maior taxa corresponde ao momento depois do qual, a expressão do fungo diminui nos resultados da mortalidade total.

Resultados e discussão

Ao comparar a mortalidade total e confirmada dos adultos de *C. sordidus* por cada método de aplicação, pode-se observar que ao final do ensaio a imersão apresentou os maiores valores em ambas às avaliações, com valores de 28,8 e 21,7%, respectivamente. Já para pulverização, aplicação tópica dorsal e ventral, a mortalidade total e confirmada foi de 15-6,7%, 11,7-5,4% e 9,6-2,9%, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Média (\pm EP) (n=240) de mortalidade total (MT), mortalidade confirmada (MC) e taxa de esporulação $(MC/MT) \times 100$ em adultos de *C. sordidus* submetidos à concentração de 1×10^9 conídios/mL do isolado de *B. bassiana* UEL 151, aos 22 e 37 dias após aplicação (DAA) dos tratamentos. Temp.: $25 \pm 1^\circ\text{C}$, fotoperíodo: 12 h.

Método de aplicação	22 daa			37 daa		
	MT	MC	$(MC/MT) \times 100$	MT	MC	$(MC/MT) \times 100$
Pulverização	5,4 \pm 1,5 bc	5,0 \pm 1,6 b	91,7% a	15,0 \pm 4,7 ab	6,7 \pm 1,39 b	63,7% a
Imersão	20,0 \pm 3,9 a	18,8 \pm 3,4 a	95,8% a	28,8 \pm 4,4 a	21,7 \pm 4,31 a	75,3% a
Tópica dorsal	6,7 \pm 1,2 b	4,1 \pm 1,1 b	61,1% ab	11,7 \pm 2,6 ab	5,4 \pm 2,08 b	51,9% a
Tópica ventral	2,9 \pm 1,5 bc	1,3 \pm 0,6 bc	37,5% bc	9,6 \pm 4,3 b	2,9 \pm 1,19 bc	29,2% ab
Testemunha	0,8 \pm 0,5 c	0 c	0 c	5 \pm 0,9 b	0 c	0 b
CV	36,2%	36,9%	42,2%	33,1 %	37,1%	46,3%

Dados originais apresentados, para análise estatística os dados das médias foram transformados em $\arcsen \sqrt{x}/100$ e submetidos à ANOVA. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Os valores de mortalidade confirmada na pulverização e aplicação tópica dorsal não diferiram estatisticamente entre eles. Já o resultado da aplicação tópica ventral não variou significativamente da testemunha, a qual não apresentou confirmação da mortalidade pelo fungo.

A maior mortalidade confirmada no método de imersão (21,7%) encontra-se na faixa de valores citados em diferentes bioensaios de laboratório. Almeida et al. (2009) avaliaram vários isolados de *B. bassiana* inoculados sobre adultos de *C. sordidus*

mediante imersão em uma suspensão de $1,1 \times 10^9$ conídios/ml, e obtiveram mortalidade confirmada entre 16 e 66%, enquanto 22% de mortalidade de *C. sordidus* numa suspensão de 2×10^9 conídios/mL é citado segundo Gomes (1985) (apud Gold, Peña e Karamura 2001).

A mortalidade confirmada pelo método de aplicação por pulverização (6,7%), encontra-se dentro dos valores (2 a 40%) obtidos por Batista Filho et al. (1991), em ensaios de seleção de isolados de *B. bassiana* utilizando o mesmo método

de aplicação com concentração de 1×10^8 conídios/mL, em insetos adultos de *C. sordidus*. Por outro lado, e utilizando a mesma metodologia, mas com concentração de 2×10^8 conídios/mL, obtiveram-se mortalidades entre 40 e 62,5% (JORDÃO et al, 1999).

Em relação à aplicação tópica dorsal ou ventral, não se tem resultados nem registro deste tipo de inoculação em bioensaios com *C. sordidus*.

Ao comparar os resultados de virulência obtidos nos diferentes trabalhos utilizando os mesmos métodos de inoculação, pode-se observar uma grande faixa de mortalidade, o que poderia estar relacionado com o fato de serem diferentes os isolados utilizados, e por apresentarem uma grande variação genética, encontrada naturalmente em *B. bassiana* (ALVES et al., 2003). Esta grande faixa de mortalidade também poderia se dever a variações genéticas entre as distintas populações do inseto ou as diferentes concentrações de fungo utilizadas nos bioensaios.

No presente trabalho, estes fatores de variação foram excluídos por ser utilizado o mesmo isolado do fungo com suspensões de igual concentração, e insetos adultos proveniente da mesma população. Assim, as diferenças nos resultados de virulência devem-se as características particulares de cada método de inoculação utilizado. Neste sentido, a imersão na suspensão permite que todo o corpo do inseto fique exposto ao inoculo, com maior número de conídios aderidos e maior probabilidade de infectar o hospedeiro.

A pulverização e aplicação tópica dorsal não tiveram diferenças, porem no primeiro caso foi aplicada a suspensão ($12,5 \mu\text{L}/\text{inseto}$) em todo o dorso do inseto, enquanto que na tópica foi aplicada localmente uma gota ($4 \mu\text{L}/\text{inseto}$) na região intersegmentar pronoto-torax. A impossibilidade de aplicar uma maior quantidade da suspensão na aplicação tópica, sem evitar derramar a suspensão pelo corpo de inseto traduz-se numa menor

quantidade de inoculo por inseto em comparação com a pulverização. Não obstante estas diferenças, a mortalidade confirmada final foi similar, o que pode ter ocorrido por ter sido a aplicação tópica dirigida a um local do corpo do inseto com maior facilidade de ser penetrado pelo fungo.

Nestas duas metodologias, só um setor do corpo fica exposto ao inoculo e por tanto a quantidade final de conídios aderidos é menor em comparação com a imersão dos insetos, o qual pode explicar pela menor mortalidade observada.

A aplicação tópica ventral foi a metodologia que apresentou a menor mortalidade confirmada (2,9%), sendo menor que a tópica dorsal e estatisticamente igual à testemunha. O menor valor pode-se explicar, provavelmente, pela menor quantidade de conídios aderidos ao inseto pelo seu comportamento que, uma vez tratado, caminha rapidamente sobre o pseudocaulo e se agrega aos outros adultos, devido a seu marcado gregarismo. Estas duas ações fazem com que grande parte do inoculo fique no pseudocaulo, ou fique no corpo dos outros insetos.

Em relação à taxa de esporulação ou confirmação de mortalidade pelo fungo, pode se observar que para todos os métodos de inoculação, apresenta um valor máximo aos 22 dias após aplicação (DAA) (Tabela 2). No caso do método de imersão, o qual apresentou a maior virulência, a taxa de esporulação aumenta até um máximo de 94% no dia 22, depois do qual começa a diminuir até o final do período com um valor de 75,4 % (Figura 1).

Após o dia 22, ainda existe confirmação de mortalidade dos insetos pelo fungo, mas também se registra um incremento na quantidade de mortalidade total, fazendo com que diminua a taxa de confirmação (MC/MT). O incremento ao final do período da mortalidade total pode se dever a maior idade dos insetos ou por causas naturais, o que se confirma com a mesma tendência de aumento na mortalidade total na testemunha (Figura 2).

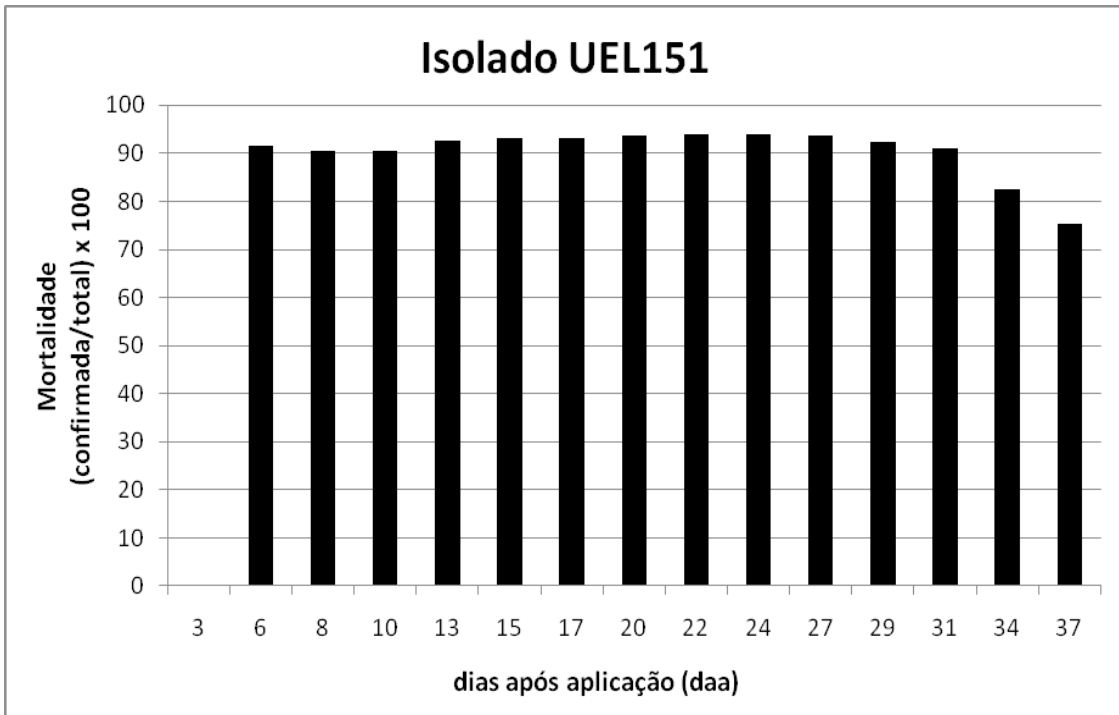


Figura 1. Evolução da taxa de esporulação (mortalidade confirmada/mortalidade total) x 100 do isolado de *B. bassiana* UEL 151 inoculado pelo método de imersão sobre insetos adultos de *C. sordidus*.

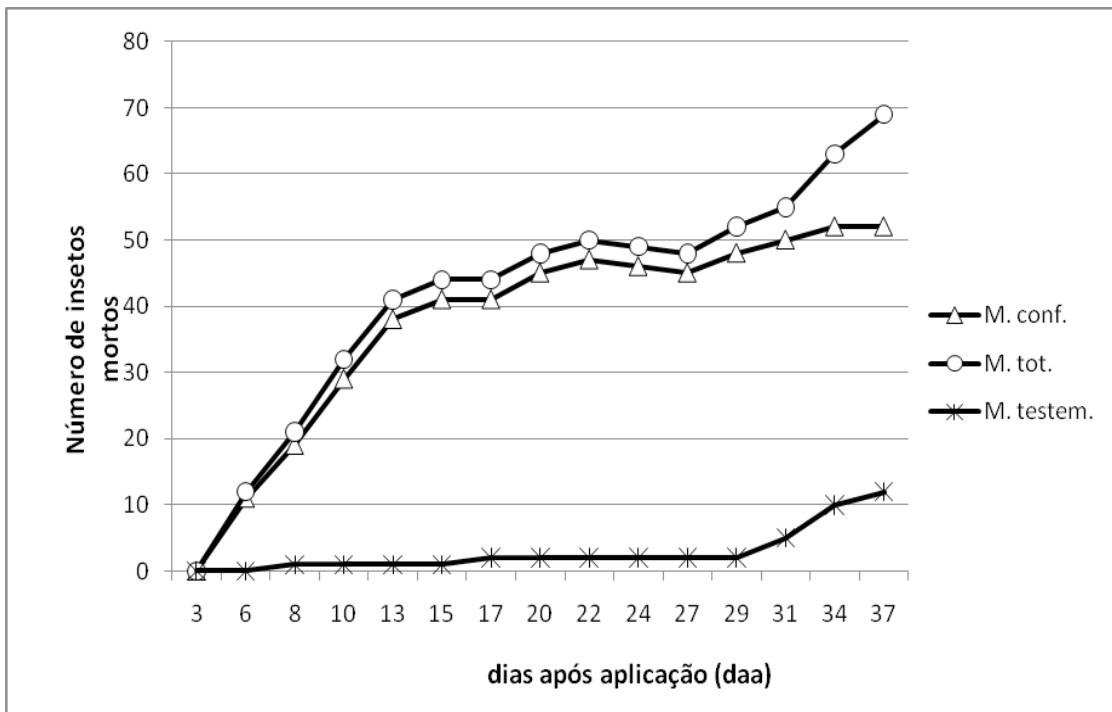


Figura 2. Evolução da mortalidade da testemunha (M. testem.), mortalidade total (M. tot.) e confirmada (M. conf.) de adultos de *C. sordidus* pelo isolado de *B. bassiana* UEL151 com concentração de 1×10^9 conídios/mL inoculado com método de imersão.

A maior taxa de esporulação no dia 22, assim como a baixa variação entre a mortalidade confirmada obtida neste dia em comparação com o final do período de avaliação, sugere diminuir o tempo de avaliação do bioensaio até os 22 DAA, com as vantagens referentes à economia de recursos e tempo. Nos diferentes estudos de seleção de isolados de *B. bassiana* em *C. sordidus* existe uma variação de 15 a 37 dias (GOLD; PEÑA; KARAMURA, 2001). Goettel e Inglis (1997) recomendam fazer avaliações de mortalidade da maioria de fungos entomopatogênicos num tempo total de 14 dias devido à lenta ação destes biocontroladores. O tempo de avaliação depende principalmente do tamanho e susceptibilidade do hospedeiro, assim trabalhos que tem como objetivo avaliar mortalidade por *B. bassiana* em outros insetos mais susceptíveis e pequenos como *H. hampei* e *A. diaperinus* não passam dos 15 dias de avaliação com elevados valores de mortalidade (NEVES; HIROSHE, 2005; ROHDE et al., 2006; SANTORO et al., 2007).

Conclusões

O presente trabalho permite concluir que:

O método de imersão provocou a maior mortalidade de *C. sordidus* com o isolado UEL 151 de *B. bassiana*;

Os métodos tópicos não são adequados para bioensaios com *C. sordidus* nas condições do presente ensaio, sendo necessários estudos com concentrações maiores.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq-Brasil pelo apoio financeiro.

Referências

ALMEIDA, A. M. B.; BATISTA FILHO, A.; TAVARES, F. M.; LEITE, L. G. Seleção de isolados de *Beauveria*

bassiana para o controle de *Cosmopolites sordidus* (Germar, 1824) (Coleoptera: Curculionidae). *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v. 76, n. 3, p. 489-493, jul./set. 2009.

ALVES, S. B. *Controle microbiano de insetos*. 2. ed. São Paulo: USP-EALQ, 1998. 1163 p.

ALVES, S. B.; LOPES, R. B.; TAMAI, M. A.; VIEIRA, S. A. Fungos entomopatogênicos usados no controle de pragas na América Latina. In: ALVES, S. B.; LOPES, R. B. (Org.). *Controle microbiano de pragas na América Latina, avanços e desafios*. Piracicaba: Fealq, 2008. Cap. 3, p. 69-110.

ALVES, S. B.; PEREIRA, R. M.; LOPES, R. B.; TAMAI, M. A. Use of Entomopathogenic Fungi in Latin America. In: UPADHYAY, R. K. (Org.). *Advances in Microbial Control of Insect Pest*. USA: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2003. p. 193-211.

BATISTA FILHO, A.; SATO, M. E.; LEITE, L. G.; RAGA, A.; PRADA, W. A. Utilização de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. no controle do moleque da bananeira *Cosmopolites sordidus* Germar, 1824 (Coleoptera, Curculionidae). *Rev. Bras. Frutic.*, Cruz das Almas, v. 13, n. 1/2, p. 35-40, 1991.

BOUCIAS, D. G.; PENDLAND, J. C. *Principles of insect pathology*. Estados Unidos de América: Kluwer Academic Publisher, 1998. 537 p.

FAN, Y.; FANG, W.; GUO, S.; PEI, X.; ZHANG, Y.; XIAO, Y.; LI, D.; JIN, K.; BIDOCHKA, M. J.; PEI, Y. Increased insect virulence in *Beauveria bassiana* strains overexpressing an engineered chitinase. *Applied and Environmental Microbiology*, EUA, v. 73, n. 1, p. 295-302, jan. 2007.

FANCELLI, M.; MESQUITA, A. L. M. Pragas da bananeira. In: SOBRINHO, R. B.; CARDOSO, J. E.; FREIRE, F. (Org.). *Pragas de fruteiras tropicais de importancia agroindustrial*. Brasília: Embrapa-SPI, Fortaleza: Embrapa-CNPAT, 1998. Cap. 3, p. 41-51.

GOETTEL, M. S.; INGLIS, G. D. Fungi: hyphomycetes. In: LACEY, L. A. (Org.). *Manual of techniques in insect pathology*. Academic Press: New York, 1997. Cap.5, p. 213-249.

GOLD, C. S.; PEÑA, J. E.; KARAMURA, E. B. Biology and integrated pest management for the banana weevil *Cosmopolites sordidus* (Germar) (Coleoptera: Curculionidae). *Integrated Pest Management Reviews*, v. 6, n. 2, p. 79-155, jun. 2001.

GOLD, C. S.; PINESE, B.; PEÑA, J. E. Pest of Banana. In: PEÑA, J. E.; SHARP, J. L.; WYSOKI, M. (Org.). *Tropical Fruit Pests and Pollinators, Biology, economic importance, natural enemies and control*. CABI Publishing, UK, 2002. Cap. 2, p.13-56.

- JORDÃO, A. L.; BATISTA FILHO, A.; LEITE, L. G.; BERIAM, L. O. S.; ALMEIDA, J. E. M. Caracterização e eficiência de isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. no controle de *Cosmopolites sordidus*. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v. 66, n. 2, p. 107-111, jul./dez. 1999.
- LOPES, B. L.; ALVES, S. B. Effect of Gregarine sp. Parasitism on the susceptibility of *Blattella germanica* to some control agents. *Journal of Invertebrate Pathology*, Holanda, v. 88, n. 3, p. 261-264, mar. 2005.
- MOSLIM, R.; WAHID, M. B.; ALI, S. R. A.; KAMARUDIN, N. The effects of oils on germination of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin and its infection against the oil palm bagworm, *Metisa plana* (Walker). *Journal of Oil Palm Research*, Malásia, v. 16, n. 2, p. 78-87, dez. 2004.
- NAKANO, O.; SILVEIRA, N. S.; ZUCCHI, R. A. *Entomologia econômica*. Piracicaba: Livroceres, 1981.
- NEVES, P. M. O. J.; HIROSE, E. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* para o controle biológico da broca-do-café *Hypothenemus Hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). *Neotropical Entomology*, Londrina, v. 34, n. 1, p. 77-88, jan./fev. 2005.
- PRANDO, H. F.; FERREIRA, R. A. Broca-do-rizoma da bananeira. In: SALVADORI, J. R.; AVILA, C. J.; DA SILVA, M. T. (Org.). *Pragas do solo no Brasil*. Passo Fundo-RS: Embrapa Trigo, 2004. Cap. 11, p. 319-343.
- ROBINSON, J. C. *Bananas and Plantains*. 3. ed. Cambridge: University Press, 2003.
- ROHDE, C.; ALVES, L. F. A.; NEVES, P. M. O. J.; ALVES, S. B.; DA SILVA, E. R. L.; ALMEIDA, J. E. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. contra o cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Neotropical Entomology*, Londrina, v. 35, n. 2, p. 231-240, mar./abr. 2006.
- SANTORO, P. H.; NEVES, P. M. O. J.; ALEXANDRE, T. M.; ANGELI, L. F. Interferência da metodologia nos resultados de bioensaios de seleção de fungos entomopatogênicos para o controle de insetos. *Pesq. Agropec. Bras.*, Brasília, v. 42, n. 4, p. 483-489, abr. 2007.
- SHAPIRO-ILAN, D. I.; REILLY, C. C.; HOTCHKISS, M. W.; WOOD, B. W. The potential for enhanced fungicide resistance in *Beauveria bassiana* through strain discovery and artificial selection. *Journal of Invertebrate Pathology*, Holanda, v. 81, n. 2, p. 86-93, out. 2002.
- TALAEI-HASSANLOUI, R.; KHARAZI-PAKDEL, A.; GOETTEL, M. S.; LITTLE, S.; MOZAVARI, J. Germination polarity of *Beauveria bassiana* conidia and its possible correlation with virulence. *Journal of Invertebrate Pathology*, Holanda, v. 94, n. 2, p. 102-107, fev. 2007.
- VELEZ, P. E. A.; POSADA, F. J. F.; MARIN, P. M.; GONZALEZ, M. T. G.; OSORIO, E. V.; BUSTILLO, A. E. P. Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos. *Cenicafé. Bol. Téc. Chinchiná-Manizales*, n. 17, p.1-37, 1997.