

PAULA LEITE DOS SANTOS

**SENSIBILIDADE DE *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* E
Cordyceps Fumosorosea, PROSPECTADOS DE SOLOS DOS ESTADOS
DE SÃO PAULO E MARANHÃO, ÀS DIFERENTES CONDIÇÕES DE
ESTRESSE CAUSADAS POR UMA VARIEDADE DE FATORES ABIÓTICOS**

Relatório de Pós-doutorado realizado na
Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu.

Supervisor: Prof. Dr. Carlos Frederico Wilcken

EDITAL 05/2024 PROPe – Programa UNESP de Pós-Doutorado

Botucatu
2025

1. Apresentação do relatório científico

O presente relatório científico abrange as atividades desenvolvidas no período de julho de 2024 a abril de 2025. A proposta inicial contemplava cinco objetivos principais, os quais foram cumpridos de forma integral ou ainda não foram realizados, conforme descrito a seguir:

I) Testes para determinação da concentração ideal de Benomyl para cada isolado fúngico;

II) Realização de experimentos de termotolerância com dois isolados de *Beauveria bassiana*, dois isolados de *Metarhizium anisopliae* e um isolado de *Cordyceps fumosorosea*;

III) Avaliação dos efeitos das radiações UV-A e UV-B sobre conídios, por meio de exposição em simulador de radiação solar;

IV) Realização de bioensaios de virulência, após exposição dos conídios à radiação ultravioleta, com os insetos-praga *Glycaspis brimblecombei*, *Bemisia tabaci* e *Euschistus heros*, com o objetivo de verificar possíveis alterações na virulência dos fungos entomopatogênicos (FEP).

2) Atividades realizadas

I) Testes para determinação da concentração ideal de Benomyl para cada isolado fúngico;

Foram conduzidos testes preliminares para determinar a concentração ideal de Benomyl que inibisse a emissão de hifas, mantendo a germinação dos conídios. Utilizou-se uma solução estoque de Benomyl a 0,1% em DMSO, incorporada ao meio BDA para obtenção das concentrações finais de 0,002%, 0,004%, 0,006% e 0,008%. Após a aplicação de 30 µL da suspensão de conídios (1×10^6 conídios/mL) por placa, estas foram incubadas em BOD a 25 ± 1 °C, no escuro, por 18, 24 e 48 horas. A concentração de 0,002% foi mais eficaz para os isolados de *Beauveria* e *Metarhizium*, com 100% de germinação em 48h e sem emissão de hifas. Para *Cordyceps*, a concentração ideal foi 0,006%, com germinação superior a 90% nas mesmas condições. Esses testes foram necessários devido à natureza selvagem dos isolados utilizados.

II) Realização de experimentos de termotolerância;

Os ensaios de termotolerância foram realizados em duplicata com isolados de *Beauveria bassiana* (n=2), *Metarhizium anisopliae* (n=2) e *Cordyceps fumosorosea* (n=1), utilizando temperaturas compatíveis com áreas de cultivo de eucalipto no Brasil (36°C, 39 °C, 42 °C e 45 °C) (Tabela 1). Suspensões de conídios (1×10^6 conídios/mL) foram submetidas a tratamento térmico em banho -maria por 0, 1, 2 e 2h30min. Em seguida, foram aplicados 30 µL por placa, contendo meio BDA suplementado

com a concentração ideal de Benomyl para cada isolado. As placas foram incubadas em BOD (25 ± 1 °C, escuro) por 18, 24 e 48 horas, para avaliação das taxas de germinação após exposição ao estresse térmico.

Tabela 1 - Código de identificação molecular (Código), espécies, cultura, local de coleta (Local), e código de acesso GenBank (CA) dos isolados de fungos entomopatogênicos

Código	Espécie	Cultura	Local	CA
LCBPF 13	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Mata nativa	Botucatu - SP	-----
LCBPF 15	<i>Beauveria bassiana</i>	Mata nativa	Botucatu - SP	MW136142
LCBPF 23	<i>Beauveria bassiana</i>	Mata nativa	Botucatu - SP	MW136377
LCBPF 63	<i>Cordyceps fumosorosea</i>	Soja	Botucatu - SP	MW137998
LCBPF 80	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Mata nativa	Grajaú - MA	-----

De acordo com os resultados obtidos a germinação dos conídios dos diferentes isolados fúngicos indicou variações em função do tempo de incubação, temperatura e tempo de exposição térmica (Tabela 2).

A viabilidade (germinação) mínima recomendada para conídios de qualidade é de pelo menos 80%, porém entre 75% e 79% pode ser aceitável em contextos experimentais, mas abaixo do ideal para produtos biológicos padronizados (Aldebis et al., 2023; Lacey et al., 2015). Sendo assim, o valor de 75% foi considerado como limite inferior aceitável para as análises.

Após 18 horas de incubação, *Beauveria bassiana* (LCBPF 23) atingiu valores superiores a 75% em múltiplas condições, com destaque para 25 °C e 0 h de exposição (85%), 1 h (89%) e 2 h (91%), além de 2h30min (87%). O mesmo isolado também apresentou germinação $\geq 75\%$ nas condições de 36°C com exposição de 0 h (78%), 1 h (79%), 2 h (76%) e 2h30min (77%). A 39 °C e 0 h, a germinação foi de 84%. *B. bassiana* (LCBPF 15) obteve germinação de 90% a 25 °C com 1 h e 2h30min de exposição, e a 42°C com 0 h (87%). *Cordyceps fumosorosea* (LCBPF 63) apresentou 75% de germinação a 25°C com 2h30min, e *Metarhizium anisopliae* (LCBPF 80) mostrou-se promissor com 78% e 77% de germinação a 25 °C com 1 h e 2 h, respectivamente, e 84% a 42 °C e 0 h.

Tabela 2 - Avaliação da germinação de Isolados Fúngicos em Função da Temperatura e Tempo de Exposição.

Período de incubação	Temp (°C)	Exposição (h)	<i>M. anisopliae</i> (LCBPF 13)	<i>B. bassiana</i> (LCBPF 15)	<i>B. bassiana</i> (LCBPF 23)	<i>C. fumosorosea</i> (LCBPF 63)	<i>M. anisopliae</i> (LCBPF 80)
18h	25	0	22%	74%	85%	48%	73%
		1	28%	90%	89%	56%	78%
		2	36%	74%	91%	54%	77%
		02:30	42%	90%	87%	75%	78%

24h	36	0	48%	75%	78%	50%	58%
		1	48%	75%	79%	39%	62%
		2	47%	69%	76%	31%	58%
		02:30	43%	67%	77%	33%	60%
	39	0	18%	76%	84%	48%	66%
		1	6%	32%	64%	4%	62%
		2	5%	33%	66%	1%	62%
		02:30	5%	52%	63%	0%	58%
	42	0	56%	87%	52%	92%	84%
		1	14%	13%	10%	3%	3%
		2	3%	8%	6%	7%	3%
		02:30	3%	3%	3%	7%	2%
	45	0	33%	59%	76%	94%	72%
		1	16%	5%	15%	5%	1%
		2	1%	1%	4%	6%	5%
		02:30	0%	0%	0%	5%	0%
24h	25	0	64%	83%	88%	81%	80%
		1	63%	89%	90%	80%	81%
		2	69%	89%	89%	78%	83%
		02:30	71%	90%	88%	85%	80%
	36	0	76%	92%	83%	84%	78%
		1	77%	90%	83%	57%	84%
		2	72%	89%	79%	74%	78%
		02:30	70%	86%	80%	76%	73%
	39	0	62%	91%	92%	76%	87%
		1	40%	42%	79%	27%	83%
		2	57%	54%	83%	9%	77%
		02:30	46%	76%	81%	3%	78%
	42	0	80%	93%	91%	86%	84%
		1	27%	36%	18%	1%	30%
		2	17%	19%	22%	6%	18%
		02:30	22%	15%	18%	4%	17%
	45	0	57%	90%	96%	100%	77%
		1	1%	1%	12%	1%	4%
		2	3%	1%	6%	2%	6%
		02:30	3%	2%	5%	2%	1%
48h	25	0	93%	95%	91%	94%	91%
		1	90%	93%	92%	92%	89%
		2	87%	86%	90%	88%	85%
		02:30	83%	85%	87%	88%	83%
	36	0	93%	96%	92%	96%	96%
		1	85%	93%	87%	93%	92%
		2	83%	88%	87%	92%	86%
		02:30	81%	86%	81%	88%	83%

39	0	92%	96%	95%	100%	98%
	1	76%	93%	88%	63%	91%
	2	68%	85%	76%	50%	77%
	02:30	66%	79%	76%	33%	77%
42	0	92%	97%	96%	97%	99%
	1	62%	93%	65%	5%	99%
	2	63%	53%	68%	8%	99%
	02:30	68%	53%	61%	2%	87%
45	0	97%	90%	98%	100%	97%
	1	14%	8%	84%	3%	15%
	2	4%	2%	14%	4%	6%
	02:30	5%	2%	5%	2%	3%

Após 24 horas de incubação, os resultados se intensificaram. Todos os isolados de *B. bassiana* (LCBPF 15 e 23) apresentaram germinação $\geq 75\%$ sob diversas condições. *B. bassiana* (LCBPF 15) atingiu 83% a 25°C/0 h, 89% a 1 h e 2 h, e 90% às 2h30min. *B. bassiana* (LCBPF 23) manteve germinação $\geq 88\%$ em todas as exposições a 25 °C e $\geq 83\%$ em 36 °C. *M. anisopliae* (LCBPF 13) apresentou germinação de 76% e 77% em 36°C/0 h e 1 h, respectivamente, e 80% em 42 °C/0 h. *C. fumosorosea* (LCBPF 63) superou 80% em condições de 25°C/0 h e 2h30min, 36 °C/0 h, 39 °C/0 h e 42 °C/0 h. *M. anisopliae* (LCBPF 80) demonstrou germinações de 80% ou mais em 25°C e 42 °C/0 h, além de 83% em 25 °C/2 h.

Após 48 horas de incubação, todos os isolados demonstraram desempenho superior. Os cinco isolados avaliados apresentaram germinação $\geq 75\%$ em praticamente todas as condições, com *C. fumosorosea* (LCBPF 63) atingindo 100% em 39 °C e 45 °C/0 h. Os isolados de *B. bassiana* (LCBPF 15 e 23) e *M. anisopliae* (LCBPF 80) mantiveram valores de germinação consistentemente superiores a 85% nas faixas de temperatura de 25°C a 42 °C, especialmente em tempos de exposição de 0 h. *M. anisopliae* (LCBPF 13) também se destacou com germinações superiores a 80% em 25 a 45 °C, principalmente em exposição nula ou reduzida.

Esses resultados indicam que os isolados avaliados, em especial *B. bassiana* (LCBPF 23), *C. fumosorosea* (LCBPF 63) e *M. anisopliae* (LCBPF 80), apresentam potencial promissor para uso em controle biológico, com viabilidade elevada mesmo em condições térmicas variadas e após diferentes tempos de incubação. Além disso, considerando o limite mínimo de viabilidade aceitável de 75%, é justificável afirmar que todos os isolados devem ser levados para a fase de avaliação dos efeitos das radiações UV-A e UV-B.

3. Atividades do Bolsista

Atividades de Participação como Avaliadora:

Eventos Científicos:

- Outubro de 2024: Avaliadora de pôsteres no **I Simpósio Internacional de Agronomia da UNESP – Tecnologias Avançadas**, promovido pela FCA/UNESP – Câmpus de Botucatu.
- Julho de 2025: Avaliadora de resumos submetidos e apresentações orais na **2ª edição do WEBB – Workshop de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia**, realizado pela FCA/UNESP.

Trabalhos de Curso (TC):

- Julho de 2024: Membro avaliador do TC de **Pedro Henrique Queiroz Navarro**, aluno do curso de Engenharia Florestal da FCA/UNESP – Câmpus de Botucatu – SP.
- Agosto de 2024: Membro avaliador do TC de **Gustavo Stocco Andriolli**, também aluno do curso de Engenharia Florestal da FCA/UNESP – Câmpus de Botucatu – SP.

Bancas de Pós-Graduação:

- Outubro de 2024: Membro da banca examinadora do **exame de qualificação de doutorado** de **Paula Gregorini Silva**, discente do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Proteção de Plantas) – FCA/UNESP.
- Dezembro de 2024: Membro da banca de **defesa de tese** de **Thais Alves da Mota**, do Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal – FCA/UNESP.
- Junho de 2025: Membro da banca de **defesa de tese** de **Luana de Carvalho Catelan**, do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Proteção de Plantas) – FCA/UNESP.

4. Justificativa

O período de 12 meses previsto para a execução do projeto permitiu a realização das etapas I e II, que incluíram os testes para determinação da concentração ideal de Benomyl para cada isolado fúngico e os experimentos de termotolerância com dois isolados de *Beauveria bassiana*, dois isolados de *Metarhizium anisopliae* e um isolado de *Cordyceps fumosorosea* sob diferentes tempos de exposição e de incubação. No entanto, as etapas III e IV não puderam ser concluídas dentro do prazo estipulado, em razão da complexidade metodológica envolvida, da necessidade de ajustes nos protocolos experimentais e do tempo necessário para a multiplicação e preparo dos conídios.

Adicionalmente, a avaliação dos efeitos das radiações UV-A e UV-B (etapa III), planejada para ser realizada na USP de Ribeirão Preto, dependia da disponibilidade de infraestrutura especializada

e do agendamento prévio, o que acabou limitando a execução no período previsto. Já a etapa IV, que consistia na realização de bioensaios de virulência com os insetos-praga *Glycaspis brimblecombei*, *Bemisia tabaci* e *Euschistus heros*, exigia condições experimentais específicas e tempo adicional para criação e manutenção das colônias de insetos, inviabilizando sua conclusão dentro do cronograma originalmente estabelecido.

5. Referências

Aquino-Bolaños, T., Ortiz-Hernández, Y., Bautista-Cruz, A., & Acevedo-Ortiz, M. (2023). Viabilidade de fungos entomopatogênicos em suspensões de óleo e sua eficácia contra a praga da agave, *Scyphophorus acupunctatus*, em condições de laboratório. *Agronomia*. <https://doi.org/10.3390/agronomy13061468>.

Lacey, L., Grzywacz, D., Shapiro-Ilan, D., Frutos, R., Brownbridge, M., & Goettel, M. (2015). Patógenos de insetos como agentes de controle biológico: De volta ao futuro. *Journal of invertebrate pathology*, 132, 1-41. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.07.009>.

Botucatu, 16 de julho de 2025

Dra. Paula Leite dos Santos
Pós-doutoranda
FCA/UNESP – Campus de Botucatu