

PATOGENICIDADE DE BEAUVERIA BASSIANA EM INSETOS - PRAGAS DA SOJA¹

GABRIELA LESCHE TONET e ERLEI MELO REIS²

RESUMO - Em ensaios de laboratório realizados no CNPT - Passo Fundo, RS, em 1976, demonstrou-se a patogenicidade de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin sobre as espécies *Nezara viridula* (L., 1758) e *Diabrotica speciosa* (Germar 1824), pragas da soja, *Glycine max*, L. (Merrill). Objetivando-se a obtenção de inóculo para trabalhos de campo, estudaram-se fatores que influem na esporulação do fungo. Foi demonstrado que o meio de cultura de semolina-ágar, com pH 6,0 e sob fotoperíodo de doze horas de luz x doze horas de escuro, promoveu a máxima produção de inóculo.

Termos para indexação: *Beauveria bassiana*, *Nezara viridula*, *Diabrotica speciosa*, *Glycine max*.

PATHOGENICITY OF BEAUVERIA BASSIANA TO SOYBEAN PEST INSECTS

ABSTRACT - The pathogenicity of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin on the soybean *Glycine max*, L. (Merrill) pest species *Nezara viridula* (L., 1758) and *Diabrotica speciosa* (Germar 1824) has been demonstrated in trials conducted in 1976 at Passo Fundo, Rio Grande do Sul State, Brazil under laboratory conditions. Aiming at to obtain the inoculum for field work, the factors influencing fungus sporulation have been studied. It has been demonstrated that culture medium of "Semolina-Ágar", with pH 6.0 and exposed to a photo-period of twelve hours under light and twelve hours in dark, gives the maximum production of inoculum.

Index terms: *Beauveria bassiana*, *Nezara viridula*, *Diabrotica speciosa*, *Glycine max*.

INTRODUÇÃO

O aumento da área de cultivo da soja, no sul do Brasil, tem sido acompanhado de maior ocorrência de pragas, sendo o grupo dos hemípteros um dos mais importantes, segundo Corseuil et al. (1973, 1974) e Turnipseed (1975). Fato semelhante foi observado nos Estados Unidos, por Miner (1966).

Para o combate às referidas pragas, têm-se usado inseticidas de modo indiscriminado, ocasionando desequilíbrio entre pragas e agentes naturais de controle (Miner 1966, Turnipseed 1975). Em 1976, na região do planalto médio do Rio Grande do Sul, foram coletados, em lavouras de soja, percevejos atacados pelo fungo *Beauveria bassiana*.

Com relação à ocorrência de fungos causando doenças em insetos da soja, encontram-se, na literatura, referências feitas por Correa & Smith (1975) e Eichler & Netto (1976) sobre *Nomurea rileyi* ata-

cando *Anticarsia gemmatilis*, (Hubner 1818), no Paraná e Rio Grande do Sul.

Considerando-se a possibilidade de usar *Beauveria bassiana* no controle biológico de pragas, realizaram-se testes preliminares de patogenicidade sobre hemípteros e coleópteros em laboratório, constatando elevado grau de virulência do fungo sobre estes insetos (Tonet & Reis 1976). Kucera & Sansínáková (1968) constataram a presença de toxinas de *Beauveria bassiana* em larvas de *Leptinotarsa decemlineata*, Coleóptera, Chrysomelidae, inseto-praga da cultura da batata. Entre os problemas resultantes do controle químico de pragas, estão a toxicidade ao homem e aos animais, e a poluição do meio ambiente. O controle biológico de pragas apresenta-se, sob diversos aspectos, como o mais indicado. Um exemplo desta técnica é o uso, a nível de lavoura, de inseticida biológico à base de *Bacillus thuringiensis* para o controle de lagartas da soja.

Dunn & Mechals (1963) citam o *Beauveria bassiana* como portador das características necessárias para ser usado como inseticida biológico em escala comercial. Segundo esses pesquisadores, é estritamente necessário que esse organismo preencha três requisitos básicos quanto à sua adaptação ao meio ambiente:

¹ Aceito para publicação em 16 de abril de 1979. Trabalho apresentado no IV Congresso Brasileiro de Entomologia, Goiânia, GO. 6 a 11 de fevereiro, 1977.

² Eng.º Agr.º, Centro Nacional de Pesquisa de Trigo (CNPT) - EMBRAPA, Caixa Postal 569, 99.100 - Passo Fundo, RS.

1. Deve comprovar a sua eficiência em reduzir populações de insetos considerados pragas de elevada importância econômica para as culturas;

2. Não pode apresentar patogenicidade ou efeito tóxico em animais de temperatura constante, inclusive o homem;

3. Necessita possuir elevada capacidade de reprodução, de maneira que seu uso seja viável economicamente, em escala comercial, no controle efetivo das pragas.

O organismo *B. bassiana* foi isolado por Sansináková et al. (1971) a partir de larvas de *Leptinotarsa decemlineata*, com o objetivo de estudar a patogenicidade do inóculo em *Galleria mellonella* e em larvas de *Melolontha melolontha*, pragas da batata. Crow et al. (1968) encontraram o fungo *B. bassiana* no curculionídeo *Sitona hispidula*, inseto que danifica a alfafa. Kucera & Sansináková (1968) avaliaram a existência de toxinas na germinação de conídios de *Beauveria bassiana*, observando o efeito destas sobre a *Musca domestica*. Em ensaios de laboratório, o *Beauveria bassiana* apresentou controle satisfatório sobre o percevejo *Lygus hesperus* e sobre os coleopteros *Tribolium confusum* e *Sitophilus granarius* (Dunn & Mechals 1963).

Os objetivos do presente trabalho foram testar a patogenicidade do *Beauveria bassiana* sobre *Nezara viridula* (L., 1758) e *Diabrotica speciosa* (Germar 1824) e estudar os fatores que influenciam na esporulação do referido fungo.

MATERIAL E MÉTODOS

A cultura de *Beauveria bassiana* foi isolada de insetos da espécie *Nezara viridula*, praga da soja.

Identificação do fungo

Obtiveram-se isolamentos do fungo a partir de insetos infetados, coletados no campo, em Passo Fundo, Rio Grande do Sul. Parte deste material, após assepsia, foi transferido para placas de Petri com meio de cultura BDA (Batata, dextrose, ágar), com sobreposição de papel filtro. Uma vez obtida a colônia pura, transferiu-se o organismo para tubos de ensaio com posterior remessa a especialistas para sua identificação.

Efeito da luz na esporulação de *Beauveria bassiana*

Este ensaio foi conduzido cultivando-se o fungo

em meio de semolina-ágar, à temperatura constante de 20°C. O experimento foi realizado em cinco repetições, e os tratamentos constaram dos seguintes regimes luminosos:

1. Fotoperíodo de doze horas de luz x doze horas de escuro;
2. Escuro contínuo;
3. Luz contínua.

A fonte luminosa constou de dois tubos de luz fluorescente de 15 W, do tipo "luz do dia" - TLD/54", de 43,5 cm de comprimento, ficando, os mesmos, distanciados de 24 cm das culturas. A obscuridade total foi conseguida envolvendo-se as placas de Petri em papel aluminizado.

Quando as culturas apresentaram dez dias de idade, atingindo elevado grau de desenvolvimento, foi feita a avaliação através da contagem de esporos por ml em câmara de Neubauer (hematocítometro). Para as contagens, recortaram-se dois discos de 1,3 cm de diâmetro, do centro da colônia de cada tratamento, sendo os esporos removidos por pincelamento. Utilizou-se, nesta operação, um volume de 100 ml de água destilada esterilizada, contendo uma gota de Triton X 114.

Teste de patogenicidade, "in vitro", de *Beauveria bassiana* sobre *Nezara viridula*

O ensaio foi conduzido em laboratório, com temperatura constante de 20°C, e fotoperíodo de doze horas de luz x doze horas de escuro, tendo como objetivo testar a patogenicidade do fungo sobre o inseto e avaliar-se o estágio de desenvolvimento em que este é mais suscetível ao organismo. O teste constou de cinco tratamentos, cada um com 16 repetições constituídas de um inseto (em diferentes estágios de desenvolvimento) por placa de Petri; os insetos eram alimentados com vagens de soja, colhidas no campo. Nas placas colocou-se papel filtro umedecido, com objetivo de fornecer condições ótimas de umidade para o desenvolvimento do organismo.

Os tratamentos consistiram em:

1. Inoculação em ninfas de terceiro estágio;
2. Inoculação em ninfas de quarto estágio;
3. Inoculação em ninfas de quinto estágio;
4. Inoculação em insetos adultos;
5. Testemunha, sem inoculação do patógeno.

A inoculação de *Beauveria bassiana* nos tratamentos foi realizada pulverizando-se, sobre os in-

setos, uma suspensão de esporos (16.000.000 esporos/ml) em água destilada esterilizada à qual fora adicionado uma gota do espalhante, Triton X 114, por 100 ml desta suspensão. As avaliações da patogenicidade do organismo nos tratamentos foram feitas pela contagem diária de insetos mortos (Fig. 1).

Teste de patogenicidade, "in vitro" de *Beauveria bassiana* sobre *Diabrotica speciosa*

O ensaio foi conduzido nas mesmas condições do anterior, sendo constituído de cinco tratamentos e quatro repetições, as quais continham dois insetos adultos por placa de Petri, mas neste caso os insetos foram alimentados com folhas de soja.

Os tratamentos foram:

1. Inoculação em folhas de soja;
2. Inoculação em insetos;
3. Inoculação em insetos e folhas;
4. Inoculação na metade da população dos insetos;

tos;

5. Testemunha sem inoculação do fungo.

A inoculação de *Beauveria bassiana* foi feita pulverizando-se a mesma suspensão de esporos utilizada no ensaio anterior, adicionando-se uma gota

do espalhante, Triton X 114, por 100 ml de suspensão. As avaliações da patogenicidade do organismo sobre esta espécie foram feitas através de contagem diária de insetos mortos que apresentavam esporulação do fungo sobre o corpo (Fig. 2).

Esporulação do fungo em diferentes meios de cultura

O organismo foi cultivado em diversos meios de cultura, segundo Tuite (1969), a fim de selecionar-se aquele que possibilitasse a máxima esporulação do fungo para posteriores inoculações de ensaios no campo. A temperatura, de 20°C, foi constante, com um foto-período de doze horas de luz x doze horas de escuro. Utilizaram-se seis meios de cultura, subdivididos em quatro tratamentos, com e sem espalhante e com e sem sobreposição de papel filtro na superfície dos substratos, em quatro repetições:

1. Czapek - ágar;
2. Aveia - ágar;
3. Semolina - ágar;
4. BDA - ágar;
5. Peptona - ágar;
6. V - 8 Juice - ágar.

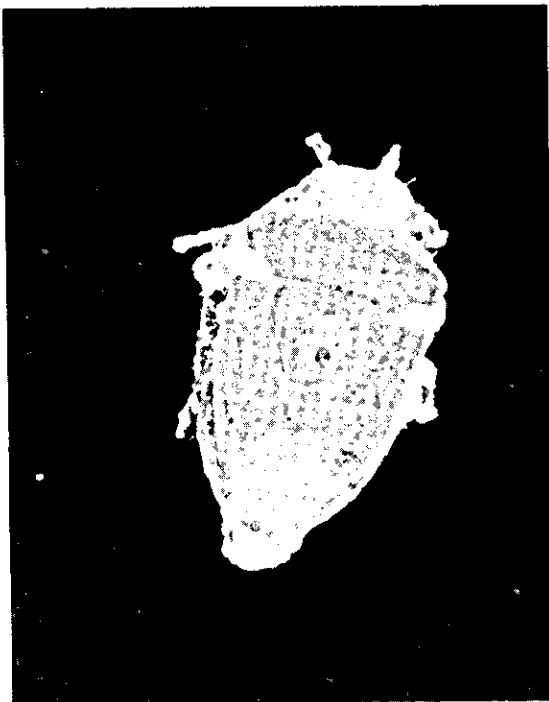


FIG. 1. *Nezara viridula*: atacada por *Beauveria bassiana*.

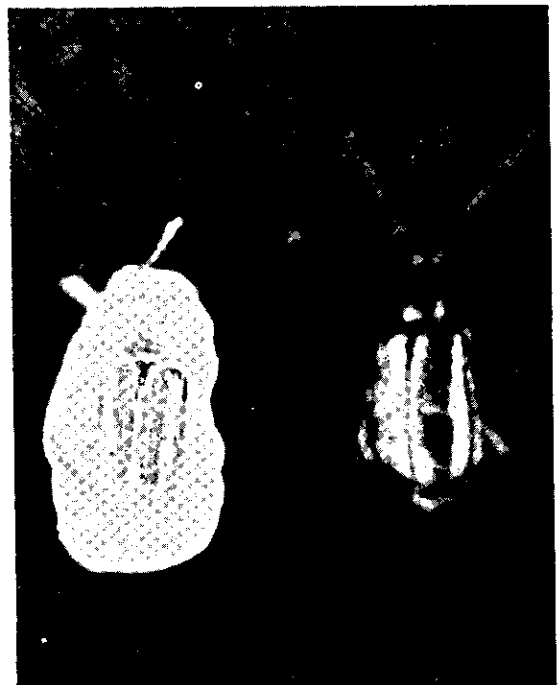


FIG. 2. *Diabrotica speciosa*: inseto sadio à direita; inseto atacado por *Beauveria bassiana*, à esquerda.

As avaliações foram feitas obedecendo-se a mesma metodologia utilizada no teste de efeito de luz na esporulação de *Beauveria bassiana*.

Efeito do pH inicial do meio de cultura na esporulação de *Beauveria bassiana*

Neste experimento, o microrganismo também foi cultivado em meio de semolina-ágar com foto-período de doze horas de luz x doze horas de escuro. A temperatura foi mantida a 20°C e o ensaio composto dos seguintes tratamentos, com cinco repetições:

1. pH = 4,0;
2. pH = 5,0;
3. pH = 6,0;
4. pH = 7,0;
5. pH = 8,0.

Obtiveram-se os valores de pH acidificando-se os meios de cultura com o emprego de ácido clorídrico e alcalinizando-se com carbonato de cálcio precipitado, antes da autoclavagem. As avaliações do teste foram feitas quando as culturas atingiram o período de incubação de dez dias, consistindo em se quantificar o número de esporos existentes em 1 ml de solução, em câmara de Neubauer.

A técnica empregada na coleta de amostras dos tratamentos para as contagens foi a mesma utilizada no teste anteriormente descrito.

RESULTADOS

Identificação do fungo

O organismo foi identificado como sendo *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, pelos especialistas consultados, cujas características podem ser observadas na Fig. 3.

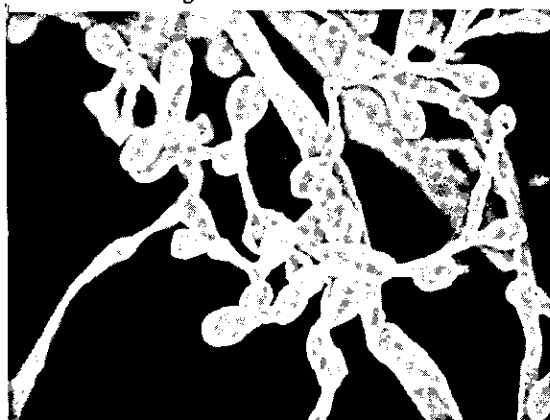


FIG. 3. Estruturas do fungo *Beauveria bassiana* (cortesia do Dr. Carner).

Efeito da luz na esporulação de *Beauveria bassiana*

A máxima esporulação do fungo ocorreu no foto-período de doze horas de luz x doze horas de escuro (Tabela 1), embora não tenha diferido estatisticamente do tratamento em que se submeteu o parasita ao regime de escuro total. Com relação à influência da luz sobre a esporulação de fungos, Tuite (1969) relata que alguns respondem positivamente à luz, ou são indiferentes, outros esporulam melhor no escuro, ou, então, requerem um período de escuro como estímulo. Nesta classificação, o *Beauveria bassiana* enquadra-se entre os que esporulam melhor no regime de luz e escuro alternados.

TABELA 1. Efeito da luz sobre a esporulação de *Beauveria bassiana*

Tratamentos	Número médio de esporos/ml ^a
1. Fotoperíodo 12 x 12	19.985.000 a
2. Obscuridade total	17.405.000 a
3. Luz contínua	12.360.000 b

^aMédias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente, segundo o teste de Tukey a 5% CV = 10,33%

Teste de patogenicidade, "in vitro", de *Beauveria bassiana* sobre *Nezara viridula*

Conforme pode ser visto na Tabela 2, após uma semana de inoculação, mais de 50% dos insetos estavam mortos nos quatro tratamentos, com exceção da testemunha. Observou-se que os insetos, 24 horas após a morte, já apresentavam esporulação visível do fungo sobre os corpos. Ninfas de quinto estágio de desenvolvimento (tratamento 3), tiveram um índice de mortalidade de 100%, dez dias após a pulverização do inóculo. Deste total, 68,7% de insetos mortos foi devido à patogenicidade do organismo testado. Os tratamentos 1, 2 e 4 apresentaram, após este período, 81,2, 81,2 e 87,5% de mortalidade, correspondendo ao efeito do fungo em 56,2, 62,5 e 67,7% respectivamente, enquanto que a testemunha apresentou somente 20,3% de insetos mortos, dos quais apenas 3,1% foram mortos por *Beauveria bassiana*. Apesar de ter sido, o ensaio, conduzido em condições controladas, observou-se a contaminação do tratamento-testemunha, talvez devido à facilidade de disseminação dos conídios do fungo por correntes de ar.

TABELA 2. Percentagens de *Nezara viridula* mortas após inoculação do fungo *Beauveria bassiana*, em condições de laboratório, em 1976 (médias de 16 repetições)

Número de dias ^a	Porcentagem de percevejos mortos											
	Tratamento 1 (ninfas de 3.º estágio)		Tratamento 2 (ninfas de 4.º estágio)		Tratamento 3 (ninfas de 5.º estágio)		Tratamento 4 (insetos adultos)		Tratamento 5 (Testemunha)			
	S/esp. ^b	C/esp. ^c	S/esp.	C/esp.	S/esp.	C/esp.	S/esp.	C/esp.	S/esp.	C/esp.		
1	12,5	0	6,2	0	6,2	0	6,2	0	6,2	0	3,1	0
2	37,5	0	6,2	0	6,2	6,2	6,2	6,2	6,2	6,2	3,1	1,5
3	50,0	0	25,0	0	12,5	6,2	18,7	6,2	18,7	6,2	3,1	1,5
4	62,5	0	25,0	0	50,0	6,2	31,2	12,5	31,2	12,5	3,1	1,5
5	75,0	0	62,5	18,7	83,7	50,0	75,0	31,2	75,0	31,2	9,3	1,5
6	81,2	0	62,5	18,7	87,5	56,2	75,0	31,2	75,0	31,2	9,3	1,5
7	81,2	6,2	75,0	43,7	93,7	68,7	87,5	56,2	87,5	56,2	12,5	1,5
8	81,2	6,2	75,0	50,0	93,7	68,7	87,5	67,7	87,5	67,7	14,0	1,5
9	81,2	56,2	81,2	62,5	100,0	68,7	100,0	67,7	87,5	67,7	20,3	3,1
10	93,7	60,5	87,5	68,7	100,0	87,5	100,0	87,5	93,7	75,0	26,5	9,3
11	93,7	62,5	93,7	68,7	100,0	87,5	100,0	87,5	93,7	75,0	29,6	10,9
12	93,7	68,7	100,0	68,7	100,0	97,5	100,0	97,5	93,7	81,2	32,8	10,9
13	93,7	68,7	100,0	66,7	100,0	87,5	100,0	87,5	100	81,2	35,9	10,9
14	93,7	75,0	100,0	81,2	100,0	93,7	100,0	93,7	100	87,5	40,6	12,5

^aData de inoculação de *Beauveria bassiana*: 26.4.76

^bPercevejos mortos sem esporulação do organismo

^cPercevejos mortos com esporulação do organismo

Teste de patogenicidade, "in vitro" de *Beauveria bassiana* sobre *Diabrotica speciosa*

Após ter sido testada a patogenicidade do organismo em hemípteros, testou-se o efeito do mesmo sobre *Diabrotica speciosa*, inseto-praga que atingiu altas populações no ano agrícola 75/76, na cultura da soja. Observa-se, na Tabela 3, que, cinco dias após a inoculação, os insetos do tratamento 2 apresentaram a maior suscetibilidade a esse organismo, com 100% de mortalidade, sendo que 90% dos casos apresentaram esporulação do fungo sobre o corpo dos insetos. Nos tratamentos 1, 3 e 4, no mesmo período, o *Beauveria bassiana* controlou 60, 80 e 60% dos insetos, respectivamente, enquanto que

a testemunha correspondente não apresentou insetos atacados pelo patógeno. Novamente, apesar de se trabalhar em condições assépticas, o tratamento testemunha neste ensaio apresentou contaminação, embora esta só tenha sido passível de observação após o sexto dia do teste. Possivelmente os insetos coletados no campo já estavam infectados ou, então, sofreram contaminação no laboratório, o que evidencia a elevada facilidade de disseminação e patogenicidade de *Beauveria bassiana*.

Esporulação do fungo em diferentes meios de cultura

Foram testados seis meios de cultura, dos mais usados, para o aumento do inóculo de fitopatógenos. Observa-se, na Tabela 4, que o meio de seno-

TABELA 3. Percentagem de *Diabrotica speciosa* morta, após inoculação do fungo *Beauveria bassiana* em condições de laboratório, em 1976 (médias de quatro repetições)

Número de dias ^a	Percentagens de insetos mortos										
	Tratamento 1 (inoculação em folhas)		Tratamento 2 (inoculação nos insetos)		Tratamento 3 (inoculação em folhas e nos insetos)		Tratamento 4 (inoculação na metade da pop. dos insetos)		Tratamento 5 (Testemunha)		
	S/esp. ^b	C/esp. ^c	S/esp.	C/esp.	S/esp.	C/esp.	S/esp.	C/esp.	S/esp.	C/esp.	
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	20	0	20	10	30	0	20	10	0	0	0
3	30	10	30	20	60	40	50	20	0	0	0
4	60	30	80	40	90	60	60	50	0	0	0
5	90	60	100	90	90	80	70	60	10	0	0
6	90	90	100	100	100	90	70	60	30	20	0
7	100	100	100	100	100	100	90	60	80	30	0
8	100	100	100	100	100	100	90	70	80	50	0
9	100	100	100	100	100	100	100	70	90	50	0
10	100	100	100	100	100	100	100	70	90	50	0
11	100	100	100	100	100	100	100	80	100	50	0

^aData da inoculação de *Beauveria bassiana* - 13.5.76

^bInsetos mortos sem esporulação de *Beauveria bassiana*

^cInsetos mortos com esporulação de *Beauveria bassiana*

TABELA 4. Esporulação do fungo *Beauveria bassiana* em diferentes meios de cultura (médias de quatro repetições)

Meios de cultura	Número médio de esporos/ml ^a			
	Com papel filtro		S/papel filtro	
	C/espalhante	S/espalhante	C/espalhante	S/espalhante
1. V - B	8.187.500 c	6.887.500 c	4.925.000 c	7.812.500 c
2. BDA	9.915.000 c	8.512.500 c	10.325.000 c	7.450.000 c
3. Peptona	12.625.000 c	11.800.000 c	10.375.000 c	5.255.000 c
4. Czapek	18.275.000 b	11.325.000 c	18.675.000 c	18.062.500 b
5. Aveia-ágar	16.800.000 b	13.000.000 c	20.050.000 b	24.475.000 b
6. Semolina-ágar	22.550.000 b	27.225.000 b	42.787.500 a	41.800.000 a

^aMédias seguidas da mesma letra não diferiram estatisticamente, segundo teste de Tukey a 5%
CV = 18,31%

lina-ágar, sem papel filtro, indiferentemente do uso de espalhante, foi que proporcionou ao fungo as melhores condições para a produção de esporos, diferindo estatisticamente dos demais.

Efeito do pH inicial do meio de cultura na esporulação de *Beauveria bassiana*

A Tabela 5 apresenta os resultados obtidos nos diferentes pHs testados. Como se pode observar, o pH = 6,0 foi o tratamento que proporcionou ao organismo a melhor frutificação, diferindo, estatisticamente, dos demais valores testados. Relativo ao efeito do pH na frutificação deste organismo, Sansináková (1966), cultivando-o em meio líquido, obteve a máxima esporulação com o pH = 4,5 diferindo, portanto, dos resultados aqui obtidos, provavelmente devido à natureza do substrato utilizado.

TABELA 5. Efeito do pH inicial do meio de cultura Semolina-ágar sobre a esporulação de *Beauveria bassiana*

Tratamentos	Número médio de esporos/mi ^a
1. pH = 4	13.880.000 b
2. pH = 5	16.705.000 b
3. pH = 6	24.555.000 a
4. pH = 7	16.735.000 b
5. pH = 8	4.225.000 c

^aMédias seguidas da mesma letra não diferiram estatisticamente, segundo o teste de Tukey a 5%
CV = 14,45%

CONCLUSÕES

1. O *Beauveria bassiana* foi patogênico às espécies *Nezara viridula* e *Diabrotica speciosa*, pragas da soja no Brasil;
2. O meio de semolina-ágar foi o que proporcionou ao *Beauveria bassiana* as melhores condições para frutificação;
3. Os regimes mencionados, de doze horas de luz x doze horas de escuro, e escuro contínuo, não diferiram estatisticamente, fornecendo, ambos, ao *Beauveria bassiana*, boas condições para seu desenvolvimento;

4. O maior número de esporos de *Beauveria bassiana* foi produzido em meio de cultura com pH inicial = 6,0.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Dr. G. Newman, e aos especialistas Drs. Garner, Puttler, Allen, Thomas e Brooks, pelo auxílio prestado na identificação de *Beauveria bassiana*, e aos laboratoristas do CNPT, Iedo Santos, Ernande Ferreira e Izolda Kellermann, pela colaboração prestada na realização dos ensaios.

REFERÊNCIAS

CORREA, B.S. & SMITH, J.G. *Nomuraea rileyi* attacking the velvetbean caterpillar *Anticarsia gemmatilis*, in Paraná. Fla. Entomol., 58(4):280, 1975.

CORSEUIL, E.; CRUZ, F.Z. da & MEYER, L.M.C. Insetos nocivos à soja no Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Faculdade de Agronomia, 1974. 36 p.

—; SILVA, T.L. da. & MEYER, L.M.C. Insetos nocivos à cultura da soja. In: REUNIÃO CONJUNTA DA SOJA, 1., Passo Fundo, 1973. Passo Fundo, 1973. 6 p.

CROW, W.R.; PUTTLER, B. & DAUGHERTY, D.M. *Beauveria bassiana* infecting adult clover root curculios in Missouri. J. Econ. Ent., 61(2):576-7, 1968.

DUNN, P.H. & MECHALAS, B.J. The potential of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin as a microbial insecticide. J. Insect. Path., 5:451-9, 1963.

EICHLER, M.R. & P. NETTO, A. Avaliação da eficiência de diversos inseticidas em U.B.V. no controle das lagartas da soja. Divul. agron., (38):19-21, 1976.

KUCERA, M. & SANSINÁKOVÁ, A. Toxins of the entomophagus fungus *Beauveria bassiana*. J. Invert. Path., 12:316-20, 1968.

MINER, F.D. Biology control of stinkbugs on soybeans. Fayetteville, s.ed., 1966. 40 p. (Bull., 708. Agric. Exp. St.).

—; MISIKOVÁ, S. & LEOPOLD, J. Action of enzymatic systems of *Beauveria bassiana* on the cuticle of the greater wax moth larvae (*Galleria mellonella*). J. Invert. Path., 18:322-30, 1971.

TONET, G.L. & REIS, E.M. Estudo da influência de fungo entomógeno em insetos que atacam a cultura da soja. In: REUNIÃO CONJUNTA DE PESQUISA DE SOJA RS/SC, 4., Santa Maria, 1976. Santa Maria, 1976. p. 54-61.

TUITE, J. Plant pathological methods. Minneapolis, Burgess Publ., 1969. 238 p.

TURNIPSEED, S.G. Manejo das pragas da soja no sul do Brasil; sugestões preliminares. Trigo e Soja, Porto Alegre, 1(1):4-7, 1975.