

2026

Efeito da pressão do circuito de pulverização na taxa de sobrevivência dos agentes biológicos

Oliveira, João Paulo de

Universidade Estadual do Norte do Paraná

OLIVEIRA, João Paulo de. Efeito da pressão do circuito de pulverização na taxa de sobrevivência dos agentes biológicos. Orientador: Leopoldo Sussumu Matsumoto. 2026. 44 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Centro de Ciências Agrárias, Campus Luiz Meneghel, Universidade Estadual do Norte do Paraná, Bandeirantes, 2026.

<https://repositorio.uenp.edu.br/handle/123456789/853>

Baixado de Repositório Institucional UENP



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE DO PARANÁ

CAMPUS LUIZ MENEGHEL

CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

JOÃO PAULO DE OLIVEIRA

**EFEITO DA PRESSÃO DO CIRCUITO DE PULVERIZAÇÃO NA TAXA DE
SOBREVIVÊNCIA DOS AGENTES BIOLÓGICOS**

BANDEIRANTES, PR, BRASIL

2026

JOÃO PAULO DE OLIVEIRA

EFEITO DA PRESSÃO DO CIRCUITO DE PULVERIZAÇÃO NA TAXA DE
SOBREVIVÊNCIA DOS AGENTES BIOLÓGICOS

Dissertação apresentada ao Programa de
Mestrado em Agronomia, da Universidade
Estadual do Norte do Paraná, *Campus* Luiz
Meneghel.

Orientador(a): Prof. Dr. Leopoldo
Sussumu Matsumoto

BANDEIRANTES, PR, BRASIL

2026

Ficha catalográfica elaborada na Biblioteca do Campus "Luiz Meneghel", vinculada ao Sistema de Bibliotecas Universitárias da Universidade Estadual do Norte do Paraná (SBU-UENP)

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

O483e Oliveira, João Paulo de.
Efeito da pressão do circuito de pulverização na taxa de sobrevivência dos agentes biológicos / João Paulo de Oliveira. – 2026.
44 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Leopoldo Sussumu Matsumoto.
Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Norte do Paraná, Campus Luiz Meneghel, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-graduação em Agronomia, 2026.
Inclui bibliografia.

1. Controle biológico - Dissertação. 2. Pulverização - Dissertação. 3. Bacillus pumilus - Dissertação. 4.

Bibliotecário Elísio Custódio Brentan Junior (CRB-9/1955)

JOÃO PAULO DE OLIVEIRA

**EFEITO DA PRESSÃO DO CIRCUITO DE PULVERIZAÇÃO NA TAXA
DE SOBREVIVÊNCIA DOS AGENTES BIOLÓGICOS**

Dissertação apresentada ao
Programa de Mestrado em
Agronomia, da Universidade
Estadual do Norte do Paraná,
Campus Luiz Meneghel.

Aprovada em: 27/03/2026

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Leopoldo Sussumu Matsumoto	UENP
Prof. Dr. Gustavo Dário	UENP
Dr. Mateus Marrafon Nicolosi	
Dr. Marco Antonio Gandolfo	
Prof. Dr. Valdir Lopes	UENP

Prof. Dr. Leopoldo Sussumu
Matsumoto
Orientador
Universidade Estadual do Norte do Paraná,
Campus Luiz Meneghel

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual do Norte do Paraná, por proporcionar a infraestrutura e os conhecimentos necessários para a realização deste trabalho.

Ao Programa de Mestrado em Agronomia (PGPAS), pelo apoio institucional e pela excelente formação oferecida ao longo do curso.

Ao meu orientador, Professor Dr. Leopoldo Sussumu Matsumoto, pela inestimável contribuição científica, pela confiança depositada no projeto, pela dedicação em todas as etapas da pesquisa e pela excelente condução desta trajetória. Seu rigor acadêmico e entusiasmo foram fundamentais.

Ao meu coorientador, Professor Dr. Marco Antonio Gandolfo, pela dedicação e comprometimento com este trabalho, acreditando desde o início em seu potencial, e no papel de diretor do Instituto Dashen, não mediu esforços para que esta pesquisa fosse realizada em parceria, cedendo toda a estrutura de seus laboratórios e deixando livre a utilização dos recursos lá presentes.

A todos envolvidos nos ensaios e nas análises, que de forma brilhante, com seu trabalho e conhecimento, tornaram possível a realização de todas as etapas deste trabalho. Sem esta ajuda, o caminho até aqui seria praticamente impossível.

Ao time da Koppert do Brasil, na figura do Sr. Vinádio Béga, gerente regional de desenvolvimento de mercado, e o Sr. Luiz Guilherme Souza, consultor de desenvolvimento de mercado, que incentivaram desde o início, este trabalho, e tornaram possível a realização dele, com a contribuição dos produtos.

Aos meus familiares, pelo amor, paciência e incentivo incondicional, que serviram de suporte emocional ao longo desta jornada acadêmica, principalmente minha esposa, Isis, que acompanhou de perto todo o processo, e nunca deixou de incentivar e motivar, a conclusão deste sonho.

OLIVEIRA, João Paulo. **Efeito da pressão do circuito de pulverização na taxa de sobrevivência dos agentes biológicos**. 2026. Dissertação de Mestrado em Agronomia - Universidade Estadual do Norte do Paraná, *Campus Luiz Meneghel*, Bandeirantes, 2026.

RESUMO

O sucesso do controle biológico e da inoculação agrícola depende da manutenção da viabilidade dos microrganismos durante a tecnologia de aplicação. Este trabalho objetivou avaliar a sobrevivência de *Bacillus pumilus*, *Azospirillum brasilense* e *Isaria fumosorosea* submetidos a diferentes níveis de pressão (300 a 700 kPa) e tempos de recirculação (0 a 40 min) em circuito de pulverização. A viabilidade foi quantificada por plaqueamento (UFC mL⁻¹) e por PCR quantitativo em tempo real (qPCR). Os resultados demonstraram que a morfologia celular é o fator determinante na resiliência ao estresse hidrodinâmico. *B. pumilus* apresentou alta estabilidade em todos os tratamentos, atribuída à proteção mecânica de seus endósporos. Em contraste, *A. brasilense* (Gram-negativa) exibiu elevada sensibilidade, com quedas populacionais drásticas ($R^2=0,93$) conforme o incremento da pressão e do tempo, atingindo a não detecção via qPCR sob 700 kPa. O fungo *I. fumosorosea* mostrou resistência intermediária, sendo estável até 500 kPa, mas vulnerável ao impacto imediato de pressões superiores ($R^2=0,76$). Conclui-se que pressões extremas causam danos estruturais e fragmentação de DNA em células vegetativas e conídios. Recomenda-se a calibração da pressão de trabalho conforme a natureza biológica do insumo, priorizando baixas pressões e menor tempo de recirculação para agentes não esporulados.

Palavras-chave: Tecnologia de aplicação; Bioinsumos; Controle biológico; Pulverização agrícola; Viabilidade microbiana

OLIVEIRA, João Paulo. **Effect of spray circuit pressure on the survival rate of biological agents**. 2026. Master's Thesis in Agronomy - State University of Northern Paraná, Luiz Meneghel Campus, Bandeirantes, 2026.

ABSTRACT

The success of biological control and agricultural inoculation depends on maintaining the viability of microorganisms during the application technology process. This study aimed to evaluate the survival of *Bacillus pumilus*, *Azospirillum brasilense*, and *Isaria fumosorosea* subjected to different pressure levels (300 to 700 kPa) and recirculation times (0 to 40 min) within a spraying circuit. Viability was quantified through plate counting (CFU mL⁻¹) and quantitative real-time PCR (qPCR). The results demonstrated that cellular morphology is the determining factor in resilience to hydrodynamic stress. *B. pumilus* showed high stability across all treatments, attributed to the mechanical protection of its endospores. In contrast, *A. brasilense* (Gram-negative) exhibited high sensitivity, with drastic population declines ($R^2=0.93$) as pressure and time increased, reaching non-detection via qPCR under 700 kPa. The fungus *I. fumosorosea* showed intermediate resistance, remaining stable up to 500 kPa but becoming vulnerable to the immediate impact of higher pressures ($R^2=0.76$). It is concluded that extreme pressures cause structural damage and DNA fragmentation in vegetative cells and conidia. It is recommended to calibrate the working pressure according to the biological nature of the input, prioritizing low pressures and shorter recirculation times for non-spore-forming agents.

Keywords: Application technology; Bio-inputs; Biological control; Agricultural spraying; Microbial viability

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
1. INTRODUÇÃO	12
2. JUSTIFICATIVA	13
3. OBJETIVOS	15
3.1 OBJETIVO GERAL	15
3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO	15
4. REVISÃO DE LITERATURA	15
4.1 Uso DE AGROQUÍMICOS	15
4.2 PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS BIOLÓGICOS	16
4.3 MERCADO DE FITOSSANITÁRIOS BIOLÓGICOS.....	17
4.4 VIABILIDADE DE PRODUTOS BIOLÓGICOS	18
4.5 PULVERIZADORES AGRÍCOLAS	18
4.6 DESAFIOS DA TECNOLOGIA DE APLICAÇÃO NA VIABILIDADE DE FITOSSANITÁRIOS BIOLÓGICOS	19
5. MATERIAL E MÉTODOS	20
5.1 ELABORAÇÃO DAS AMOSTRAS	20
5.2 AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO MICROBIANO EM PLACA DE PETRI.....	26
5.3 SELEÇÃO DE CÉLULAS VIÁVEIS, EXTRAÇÃO DE DNA E QUANTIFICAÇÃO DE MICROORGANISMOS POR QPCR (REAÇÃO EM CADEIA POLIMERASE QUANTITATIVO)	28
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
6.1 VIABILIDADE DE <i>BACILLUS PUMILUS</i> (CARAVAN®)	29
6.2 VIABILIDADE DE <i>AZOSPIRILLUM BRASILENSE</i> SPP. (AZOKOP®).....	32
6.3 VIABILIDADE DE <i>ISARIA FUMOSOROSEA</i> (OCTANE®)	35
7. CONCLUSÃO	37
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Simulador do pulverizador	21
Figura 2- Comando para regulagem de pressão.....	21
Figura 3- Bomba de pressurização do circuito hidráulico	22
Figura 4- Calhas coletoras da pulverização	24
Figura 5- Coleta das amostras.....	26
Figura 6- Diluição seriada.....	26
Figura 7- Esfregação com alça de Drigalsky	27
Figura 8 - Técnica de gotas.....	27
Figura 9 - Análise de regressão linear da taxa de sobrevivência (UFC mL ⁻¹) da bactéria <i>Bacillus pumilus</i> submetida a diferentes pressões (A) e diferentes tempos (B) de recirculação da calda.....	30
Figura 10 - Viabilidade de <i>Bacillus pumilus</i> (Log UFC mL ⁻¹) em função da pressão e do tempo, pela análise de qPCR	32
Figura 11- Análise de regressão linear da taxa de sobrevivência (UFC mL ⁻¹) da bactéria <i>Azospirillum brasilense</i> submetido a diferentes pressões (A) e diferentes tempos (B) de recirculação da calda.....	33
Figura 12 - Viabilidade de <i>Azospirillum brasilense</i> spp. (Log UFC mL ⁻¹) em função da pressão e do tempo, pela análise de qPCR.....	34
Figura 13 - Análise de regressão linear da taxa de sobrevivência (UFC mL ⁻¹) de <i>Isaria fumosorosea</i> submetido a diferentes pressões (A) e diferentes tempos (B) de recirculação da calda.....	36
Figura 14 - Viabilidade de <i>Isaria fumosorosea</i> (Log UFC/mL ⁻¹) em função da pressão e do tempo	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Pontas de pulverização e pressões	20
Tabela 2 - Parâmetros da água	22
Tabela 3- Tratamentos, produto comercial e pressões	23
Tabela 4- Tempos de coleta de cada amostra	25
Tabela 5- Meios de cultura utilizados para análise do crescimento microbiana.....	28
Tabela 6 - Taxa de sobrevivência (UFC mL ⁻¹) da bactéria <i>Bacillus pumilus</i> submetida a diferentes pressões e tempos de recirculação da calda em tanque de pulverização.	30
Tabela 7 - Análise em placa de Petri da taxa de sobrevivência (UFC mL ⁻¹) da bactéria <i>Azospirillum brasilense</i> submetida a diferentes pressões e tempos de re-circularização da calda em tanque de pulverização.....	33
Tabela 8 - Taxa de sobrevivência (UFC mL ⁻¹) do fungo <i>Isaria fumosorosea</i> submetido a diferentes pressões e tempos de recirculação da calda em tanque de pulverização.	36

1. INTRODUÇÃO

O uso de agroquímicos na produção agrícola brasileira é uma prática frequente em cultivos convencionais, que visa o controle dos agentes causadores de danos nas culturas, compostos majoritariamente por insetos-praga, microrganismos fitopatogênicos (fungos, bactérias e vírus) e plantas infestantes que conseqüentemente causam a redução do potencial produtivo dela (HESS *et al.*, 2020). O mesmo autor observou que entre os anos de 2010 e 2020 houve um aumento significativo da comercialização de produtos fitossanitários de origem química (agroquímicos), reflexo da necessidade do controle efetivo de pragas e doenças nas culturas.

De modo geral, o uso de agroquímicos apresenta custo de investimento relativamente baixo. Quando aplicados da maneira correta, apresentam efetivo controle dos agentes causadores de danos nas culturas, porém, quando incorreta, estes produtos podem apresentar riscos de contaminação para o ambiente e, principalmente, para o ser humano inserido neste meio (INCA, 2018).

Dentre as inúmeras opções de agroquímicos ofertados no mercado nacional, os fitossanitários biológicos, também chamados de bioinsumos, vêm ganhando destaque nas aplicações, sendo inegável de que se trata de produtos com controle efetivo de agentes causadores de danos e mostram que é possível o manejo de culturas com a utilização de produtos com menor potencial de risco ao ambiente (BUENO *et al.*, 2022).

Existem vários produtos fitossanitários biológicos que estão sendo comercializados atualmente e apresentam várias funções como biofertilizantes, bioestimulantes, bioinseticidas, biofungicidas e bionematicidas (MERARA *et al.*, 2022). Os mesmos autores destacam que estes produtos, em sua maioria de origem microbiana, podem ser listados desde metabólitos secundários a células microbianas como fungos, nematoides, vírus e bactérias. Embora a adoção dos produtos biológicos seja usual na cadeia de suprimentos da agricultura brasileira, ainda existem dúvidas dos efeitos das pulverizações convencionais sobre a mortalidade desses fitossanitários biológicos. Dentre os fatores que podem reduzir a viabilidade biológica, está a pressão do circuito de pulverização dos pulverizadores (BELCHIOR *et al.*, 2017).

Considerando as observações de Belchior *et al.* (2017), por se tratar de produtos onde são utilizados seres vivos, existe uma infinidade de fatores que podem contribuir para a proliferação ou mortalidade dos microrganismos utilizados em sua composição. Entre os fatores que podem viabilizar ou não a aplicação de fitossanitários biológicos, a pressão existente no circuito de um pulverizador pode ser um dos desafios enfrentados

pelo material biológico durante a aplicação, pois está submetido a condições adversas à sua sobrevivência. Sendo assim, o entendimento do efeito da pressão operacional do circuito de pulverização, bem como o número de ciclos da calda entre a bomba e o reservatório pode afetar a taxa de sobrevivência de agentes biológicos.

2. JUSTIFICATIVA

A atividade de produção agrícola, independentemente de sua região ou área cultivada, enfrenta inúmeros desafios durante os ciclos produtivos, desde dificuldades com os efeitos meteorológicos até os problemas logísticos no escoamento da safra. Entre as inúmeras dificuldades, o controle de pragas e doenças representa mais um desafio na potencialização da produtividade. Estes agentes causadores de danos reduzem o potencial produtivo interferindo na qualidade de grãos no Brasil e, por consequência, a maior parte dos custos da produção está focada no controle destas pragas e doenças (GUIDUCCI, *et al.*, 2020, CAFFAGNI, 2022).

Segundo a FAO (2022), uso de agroquímicos sempre foi amplamente utilizado nas lavouras de quase todos os países do mundo. O Brasil, pelo seu potencial produtivo, por sua ampla diversidade de culturas e um clima tropical, não poderia ser diferente, tendo se tornado mais comum o uso apenas de agroquímicos. Os modelos de produção adotados atualmente são muito dependentes destes produtos, com o objetivo de maximizar a produção e manter a sustentabilidade financeira do mercado, permitindo a produção em ampla escala para manter a cadeia produtiva e a indústria de alimentos global (Baptista, 2024).

De acordo com Meyer *et al.* (2022), o uso de alguns tipos de fitossanitários biológicos pode trazer benefícios à cultura pela sua ação simbiótica com a planta, proporcionando um efetivo controle de pragas e doenças. Além disso, o uso destes produtos pode diminuir a contaminação ambiental e humana e ainda assim ser eficaz e satisfatório para sua finalidade.

Conforme Queiroz *et al.* (2025) afirma, o desenvolvimento de fitossanitários biológicos de linhagem botânica no Brasil como alternativa mais saudável aos agroquímicos sintéticos enfrenta desafios significativos, principalmente devido ao registro burocrático e custoso, que é dificultado pela complexa composição dos extratos vegetais, exigindo uma nova Instrução Normativa Conjunta (INC) simplificadora. Além disso, a baixa estabilidade desses produtos no campo e a necessidade de cultivo em larga escala das espécies são obstáculos logísticos. No entanto, o país possui um enorme

potencial para superar essas barreiras, impulsionado por sua biodiversidade e por soluções como o uso da nanotecnologia para aumentar a persistência dos produtos e o aproveitamento de partes vegetais descartadas de outras cadeias.

O avanço do Programa Nacional de Bioinsumos (BRASIL, 2020) tem demonstrado que a solução para acelerar o desenvolvimento de ativos, reside na inovação. Segundo o MAPA (2021), a sinergia entre startups, centros de pesquisa como a Embrapa e o setor privado é o que permite agregar valor e promover a bioeconomia no agronegócio nacional.

Contudo, é necessário compreender de forma mais profunda como estes fitossanitários biológicos se comportam, qual a interação deles com os circuitos de pulverização hidráulicos e o quanto eles se adequam aos métodos e equipamentos já utilizados no campo. Os pulverizadores que trabalham atualmente têm seu foco na aplicação de agroquímicos, visto que, desde seu desenvolvimento até as suas recomendações e métodos de trabalho, estão sempre voltadas para o uso de produtos de origem química (JACTO, 2024, JOHN DEERE, 2021).

Junto com a expansão no uso de fitossanitários biológicos, se torna necessário ampliar as pesquisas sobre este assunto, levantar informações pertinentes ao uso cotidiano e quais as possíveis barreiras enfrentadas durante sua aplicação. Abad (2025) e Nascimento (2024), são bons exemplos de estudos focados na interação de fitossanitários biológicos, trazendo importantes informações, a respeito da compatibilidade de caldas, compostas por fitossanitários biológicos somados a inseticidas químicos, delimitando um padrão de possíveis misturas ou até mesmo limitando a mistura destes produtos devido a sua incompatibilidade, seja ela química ou física. É notória a relevância de fitossanitários biológicos no controle de pragas e doenças e o crescimento de seu uso nas pulverizações agrícolas, sendo cada dia mais comum encontramos produtores rurais que aderiram ao uso dos fitossanitários biológicos e que os mantêm em sua lista de produtos para manejo das culturas.

Apesar do foco nas pesquisas e na formação de conhecimento com embasamento científico, trazendo inúmeros resultados a respeito dos fitossanitários biológicos no controle de pragas e doenças, a pressão sofrida por estes produtos, durante a sua pulverização, ainda é pouco explorada. Sabendo disso, este trabalho tem como objetivo, expandir o conhecimento nesta área, trazendo informações e resultados relacionados a interação dos fitossanitários biológicos e a pressão dos pulverizadores agrícolas.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar possíveis interações entre a pressão do sistema de pulverização e a taxa de mortalidade dos agentes biológicos.

3.2 Objetivo específico

Avaliar o efeito da pressão operacional e do tempo no circuito de pulverização na viabilidade dos agentes biológicos: *Isaria fumosorosea* CEPA ESALQ 1296, *Azospirillum brasilense* CEPAS AbV5 e AbV6 e *Bacillus pumilus* submetidos a diversas pressões no sistema de pulverização;

Estabelecer a interação entre a pressão de trabalho e uma possível perda de viabilidade na aplicação de fitossanitários biológicos;

Correlacionar o número de ciclos da calda entre bomba e reservatório afetam a taxa de sobrevivência dos microrganismos;

Compreender a pressão no circuito hidráulico como fator causador de mortalidade dos agentes biológicos;

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Uso de agroquímicos

A utilização de agroquímicos no Brasil é uma prática que tem grande ligação com a sistematização das lavouras brasileiras, que ocorreu entre os anos de 1960 e 1970, período que o governo fomentava financeiramente o uso de produtos químicos para a produção agrícola através de créditos, com o objetivo de forçar uma modernização no campo (PERES, 1999).

Apesar de seu uso ser essencial para a produção em larga escala, os fitossanitários biológicos devem ser usados de forma consciente e de maneira responsável. Ramos (2021) alerta sobre a necessidade de uma boa educação ambiental quando se refere ao uso de agroquímicos, pois é de conhecimento que quando usado de forma indiscriminada os inseticidas podem causar a morte de insetos que não são os alvos das aplicações e de espécies benéficas à produção agrícola. Ela ainda enfatiza que os principais danos não se referem apenas ao uso de agroquímicos no controle, mas sim uma soma de fatores, como climático, redução dos habitats naturais, entre outros.

Porém alguns pesquisadores já se questionavam sobre os possíveis riscos que estes produtos poderiam trazer para o meio ambiente e, principalmente, para a saúde humana, visto que pouco se sabia dos efeitos da exposição a estes produtos a longo prazo. Naquela época, o grande protagonista das lavouras era o pesticida Dicloro-Difenil-Tricloroetano, conhecido como DDT, produto usado em larga escala e com poucas restrições em quase todas as aplicações agrícolas (CARSON, 1962).

O uso de agroquímicos nas lavouras com o objetivo de controlar pragas e doenças que reduzem a produtividade é algo inevitável no atual cenário, pois dependemos do auxílio destes produtos para manter a produtividade, garantir a produção e conseqüentemente o abastecimento da população com alimentos, fibras e energia, além de assegurar a viabilidade econômica da produção agrícola (SILVA *et al.*, 2022, CULTIVAR, 2025). Ainda nesta linha de raciocínio Tavella *et al.* (2011), aponta que podemos fazer o uso destes mecanismos para manter a produtividade, no entanto deveríamos ter outras opções que apresentam menor potencial de risco de contaminação, empregando outros métodos alternativos no primeiro momento, métodos estes como controle integrado de pragas, rotação de cultura e também o uso dos fitossanitários biológicos para manejo cultural, trazendo estas opções à frente do uso tradicional dos agroquímicos.

4.2 Produtos fitossanitários biológicos

Para fins de esclarecimento, a definição dos agentes biológicos, ou fitossanitários biológicos como devidamente tratado no texto, se trata de todo produto, processo ou tecnologia de origem vegetal, animal ou microbiana, que tem como finalidade a melhoria na produção, armazenamento ou beneficiamento de produtos de origem agropecuária, que tragam interação benéfica com os produtos de interesse comercial (BRASIL, 2020).

O uso de fitossanitários biológicos é visto como uma alternativa para a aplicação tradicional de agroquímicos nas lavouras de todo o mundo. Estes produtos são produzidos através da multiplicação de fungos, bactérias ou vírus, podendo ser utilizados no controle de pragas e doenças, assim como na fixação de nutrientes pela planta, se tornando uma relação benéfica para a cultura. A utilização de fitossanitários biológicos para a redução dos agentes causadores de danos nas principais culturas de interesse humano se destaca como uma alternativa promissora para a diminuição do uso de agroquímicos que, além de serem utilizados há muitos anos, podendo gerar algum tipo de resistências nos alvos

de controle, ainda podem causar danos à saúde humana e ao meio ambiente se manejados da forma indiscriminada (MEYER *et al.*, 2022).

Segundo Maddalena *et al.* (2024), um exemplo claro dos benefícios do uso dos fitossanitários biológicos é o uso de *Metarhizium anisopliae* no controle da lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiper*). O uso deste fungo demonstrou um excelente controle de lagartas-do-cartucho, chegando a uma efetividade de controle de aproximadamente 80%. Além do exemplo citado anteriormente, o *Metarhizium anisopliae* apresenta efetividade de controle em cerca de 300 outras espécies de insetos, muitos deles causadores de danos a culturas de interesse humano (ALVES., 1998)

4.3 Mercado de fitossanitários biológicos

Em 2024, a comercialização de produtos fitossanitários no Brasil manteve uma trajetória de alta, impulsionada pela expansão das áreas de cultivo e pela pressão de pragas no Centro-Oeste (CLIMAINFO, 2026). No balanço de registros encerrado em 2025, o Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) atingiu a marca histórica de 912 novos produtos registrados, sendo que, deste total, 17,7% (162 produtos) correspondem a fitossanitários biológicos, o maior volume da série histórica (MAPA, 2026). Esse avanço consolida a transição biotecnológica no campo, com o mercado de fitossanitários biológicos atingindo um faturamento de R\$ 4,35 bilhões na safra 2024/25, um crescimento de 18% em relação ao ciclo anterior (KYNETEC, 2025).

É de comum conhecimento que o produtor rural procura alternativas para o sistema de manejo de pragas e doenças usualmente utilizado pelos motivos já citados anteriormente. Por consequência, os fitossanitários biológicos têm conquistado seu espaço na agricultura: estima-se que nos últimos anos estes produtos de origem biológica tiveram um crescimento de 10% no mercado global. Porém, neste mesmo período, o crescimento no mercado nacional foi de 60%, demonstrando o interesse no uso de produtos mais sustentáveis pelos agricultores brasileiros (MARRONE., 2024).

Um grande avanço no mercado de bioinsumos se deu no ano de 2020 com o decreto 10.375, de forma a instituir o Programa Nacional de Bioinsumos e o Conselho Estratégico do Programa Nacional de Bioinsumos, onde estabeleceu as definições legais de bioinsumos, além de trazer no texto o planejamento para a expansão do uso destas tecnologias, instituindo maneiras seguras de aplicações, bem como fomentar o seu desenvolvimento e sua comercialização no território nacional, criando um marco no setor agropecuário.

4.4 Viabilidade de produtos biológicos

Quando se fala em aplicação de fitossanitários biológicos, o argumento mais utilizado para sua adesão é a questão ambiental, visando aplicações que possuam um menor risco de contaminação. Porém, é importante destacar que, por se tratar de materiais de origem biológica, é necessário que no momento da pulverização exista uma quantidade mínima de agente biológico e que esse esteja em condições viáveis para efetivo controle do alvo da aplicação. Um grande desafio é o armazenamento deste material tanto nas fábricas quanto nas propriedades rurais, mas, com o avanço da tecnologia, os métodos de armazenamento de longo prazo foram modernizados, utilizando o processo de liofilização, por exemplo, que se trata de uma forma de ultracongelamento, promovendo a conservação do material biológico sem interferência na sua capacidade de reprodução no momento da aplicação (MEYER *et al.*, 2022).

Segundo Steinke *et al.* (1995), as aplicações dos produtos fitossanitários biológicos são na sua grande maioria, feitas com os mesmos equipamentos utilizados nas aplicações convencionais de agroquímicos e muitas das vezes utilizam-se das mesmas metodologias de aplicação, não se atentando que os produtos são compostos por organismos vivos que dependem de condições adequadas para sobreviver.

4.5 Pulverizadores agrícolas

Segundo Christofolletti (1992), de forma simplificada, os pulverizadores se constituem por: reservatório, registro, filtro, comando, barras e pontas de pulverização, e esse sistema tem o intuito de gerar gotas nas pontas através da pressão do circuito exercida sobre a calda, de forma a distribuir o mais uniforme possível os produtos em toda a lavoura.

Raetano *et al.* (2019) descreve a importância dos procedimentos de calibração e regulagem de um pulverizador, que estes equipamentos agrícolas devem ter a capacidade de alterar a sua velocidade de deslocamento, a taxa de aplicação ($L\ ha^{-1}$) e a pressão interna do circuito de pulverização, independente do ano de fabricação ou da marca em questão.

Ainda se faz necessário maior entendimento da interação destes fitossanitários biológicos dentro dos circuitos de pulverização mais comuns nas lavouras brasileira, visto que o desenvolvimento e a construção destas máquinas levam em consideração as aplicações de agroquímicos, que representa a grande maioria dos produtos fitossanitários

utilizados, havendo pouca ou nenhuma informação referente ao uso destes produtos nos manuais e guias dos pulverizadores (JACTO, 2024, JOHN DEERE, 2021).

Grande parte das aplicações de produtos fitossanitários, independente de sua origem, utiliza equipamentos terrestres de barras, podendo ser automotrizes, de arrasto ou montados na parte traseira de tratores. Estes equipamentos são compostos por um chassi, responsável por suportar o peso do reservatório, pelos filtros, que tem o objetivo de filtrar partículas sólidas, pela bomba de pulverização, responsável por gerar o fluxo da calda para as barras ou para o reservatório, por um controlador, que pode alterar a pressão no circuito hidráulico da calda para manter a taxa constante, por ramais, que são as mangueiras que conectam os componentes do circuito, pelas barras e pelos bicos de pulverização (MATUO, 1990).

4.6 Desafios da tecnologia de aplicação na viabilidade de fitossanitários biológicos

O uso de produtos fitossanitários de base biológica, consolidou-se como uma estratégia indispensável para a sustentabilidade do agronegócio brasileiro (BRASIL, 2020). No entanto, a transição do laboratório para o campo impõe grandes desafios, especialmente no que diz respeito à manutenção da viabilidade dos agentes de controle biológico durante o processo de transporte, armazenamento, preparo das misturas e principalmente no momento das pulverizações mecanizadas.

Pesquisas recentes indicam que a interação entre os fitossanitários biológicos e os componentes do sistema de pulverização pode comprometer a eficácia do tratamento. O fator determinante nesse cenário é a pressão de trabalho exercida pelos pulverizadores. De acordo com estudos de Zambon *et al.* (2021), microrganismos como o fungo *Beauveria bassiana* e bactérias do gênero *Bacillus* são sensíveis ao estresse mecânico e térmico. Quando submetidos a pressões elevadas (acima de 400 kPa ou 60 psi), ocorre um fenômeno de cisalhamento celular que pode levar à mortalidade imediata ou à redução drástica da taxa de germinação dos propágulos.

Entretanto, a literatura científica demonstra que a mortalidade não é uma regra absoluta, mas sim uma variável dependente da tecnologia utilizada. Santos *et al.* (2023) observaram que o uso de pontas de pulverização com indução de ar, que operam com gotas maiores, tende a preservar melhor a integridade das membranas celulares de microrganismos em comparação a pontas de jato plano comum. Além disso, a compatibilidade química em misturas de tanque é outro fator de pressão que pode

potencializar a mortalidade dos microrganismos se não houver um manejo criterioso (MAPA, 2021).

Dessa forma, a investigação sobre a pressão ideal e o tipo de bico de pulverização justifica-se pela necessidade de garantir que a "dose viva" aplicada atinja o alvo com vigor biológico suficiente para o controle efetivo das pragas e doenças, evitando desperdícios econômicos e garantindo a eficiência da bioeconomia no campo.

5. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Instituto Dashen de Pesquisa Agrônômica, na área rural do município de Bandeirantes – PR e no Lab MicroS, Laboratório de Microbiologia do solo da UENP – Universidade Estadual do Norte do Paraná – Campus Luiz Meneghel, localizado no município de Bandeirantes – PR.

5.1 Elaboração das amostras

Para a realização deste trabalho, no laboratório do Instituto Dashen foi utilizado um simulador de pulverização estacionário, montado a partir de peças de um pulverizador modelo Condor 600L da marca Jacto (Figura 1), equipado com comando Masterflow MF 2000 (alavancas) (Figura 2), responsável pela regulagem da pressão do sistema e uma bomba de pistões do modelo JP 75 (Figura 3), com vazão máxima de 75 L min^{-1} a 540 RPM, movida por motor elétrico de 6 kW. O pulverizador foi equipado com 4 barras de aço inox, de 1,04 metros de comprimento, com 1,27 cm ($\frac{1}{2}$ polegada) de diâmetro e espaçamento entre bicos de 50 centímetros, utilizando 3 bicos por barra, totalizando 12 bicos de pulverização no conjunto. As pontas utilizadas eram novas, dos modelos JAC 80 01 e J3D 100 015, sendo adequada cada ponta a pressão ideal de trabalho (Tabela 1). Para a execução deste trabalho todas as peças do pulverizador, foram instaladas em uma bancada de metal, dentro do laboratório, de forma a evitar interferência de fatores ambientais como temperatura e incidência solar.

Tabela 1- Pontas de pulverização e pressões

Bico	Pressão (kPa)	Pressão (psi)	Vazão (L min^{-1})
J3D 100 015 (VERDE)	300	43,51	0,590
J3D 100 015 (VERDE)	400	58,02	0,681
JAC 80 01 (LARANJA)	500	72,52	0,511
JAC 80 01 (LARANJA)	600	87,02	0,560
JAC 80 01 (LARANJA)	700	101,53	0,605

Figura 1- Simulador do pulverizador



Fonte: Acervo próprio (2024)

Figura 2 - Comando para regulagem de pressão



Fonte: Acervo próprio (2024)

Figura 3 - Bomba de pressurização do circuito hidráulico

Fonte: Acervo próprio (2024)

Antes do início das pulverizações, alguns parâmetros da água utilizada para o ensaio foram analisados, em parceria com o Núcleo de Investigação em Tecnologia de Aplicação e Máquinas Agrícolas – NITEC, localizado no campus da UENP em Bandeirantes – PR. Foram realizadas análise de pH, Condutividade Elétrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$) e Dureza Total (ppm CaCO_3), chegando aos seguintes parâmetros (Tabela 2):

Tabela 2 - Parâmetros da água

Análises	Resultado	Equipamento
pH	8,05	Hanna HI83399-02
Condutividade Elétrica	264 $\mu\text{S}/\text{cm}$	AK 135 max
Dureza total	90 ppm CaCO_3	Hanna HI83399-02

Os produtos comerciais utilizados foram: Octane® (*Isaria fumosorosea* CEPA ESALQ 1296) Azokop® (*Azospirillum brasilense* CEPA AbV5 e AbV6) e Caravan® (*Bacillus pumilus*), todos os materiais cedidos pela empresa Koppert, seguindo as seguintes dosagens, 0,5 L ha⁻¹, 0,4 L ha⁻¹ e 0,4 L ha⁻¹ respectivamente, conforme especificação das bulas dos produtos comerciais. Durante a pulverização foi adotada como padrão uma taxa de aplicação de 100 L ha⁻¹. Foram avaliadas as seguintes pressões de trabalho: 300, 400, 500, 600 e 700 kPa para cada calda, que associadas aos três diferentes produtos comerciais, serão denominadas de tratamentos (Tabela 3).

Tabela 3 - Tratamentos, produto comercial e pressões

Tratamento	Produto comercial	Agente biológico	Pressão (kPa)	Dose L ha ⁻¹
1	Octane®	<i>Isaria fumosorosea</i> CEPA ESALQ 1294	300	0,5
2	Octane®	<i>Isaria fumosorosea</i> CEPA ESALQ 1294	400	0,5
3	Octane®	<i>Isaria fumosorosea</i> CEPA ESALQ 1294	500	0,5
4	Octane®	<i>Isaria fumosorosea</i> CEPA ESALQ 1294	600	0,5
5	Octane®	<i>Isaria fumosorosea</i> CEPA ESALQ 1294	700	0,5
6	Azokop®	<i>Azospirillum brasilense</i> CEPAS AbV5 e AbV6	300	0,4
7	Azokop®	<i>Azospirillum brasilense</i> CEPAS AbV5 e AbV6	400	0,4
8	Azokop®	<i>Azospirillum brasilense</i> CEPAS AbV5 e AbV6	500	0,4
9	Azokop®	<i>Azospirillum brasilense</i> CEPAS AbV5 e AbV6	600	0,4
10	Azokop®	<i>Azospirillum brasilense</i> CEPAS AbV5 e AbV6	700	0,4
11	Caravan®	<i>Bacillus pumilus</i>	300	0,4
12	Caravan®	<i>Bacillus pumilus</i>	400	0,4
13	Caravan®	<i>Bacillus pumilus</i>	500	0,4
14	Caravan®	<i>Bacillus pumilus</i>	600	0,4
15	Caravan®	<i>Bacillus pumilus</i>	700	0,4

Para o preparo das caldas foi adicionado no reservatório do pulverizador 50% do volume utilizado na pulverização de água através da tampa superior, em seguida o equipamento foi ligado com os ramais de pulverização fechados, ocorrendo apenas a circulação entre a bomba e o reservatório. Em paralelo, a dosagem recomendada do produto foi pré-diluída em uma balde contendo 20 litros de água, homogeneizada com o uso de um misturador de hélices metálicas acoplado a uma furadeira e agitada em baixa velocidade por cinco minutos de forma ininterrupta, com o objetivo de formar uma calda de pré mistura. Posteriormente, esta pré diluição de 20 litros de água e a dosagem do produto foi adicionada à água que já estavam no interior do reservatório de pulverização através da tampa superior. Após a adição desta pré mistura no interior do reservatório, foram aguardados mais cinco minutos, mantendo a bomba ligada e o comando fechado, tempo este utilizado para a incorporação total dos produtos, formando uma calda (água + fitossanitários biológicos) e também para a adição do restante de água necessária (50% do volume utilizado na pulverização), para a realização da pulverização. Este processo foi realizado de forma individual para cada pressão de trabalho e para cada produto, não

sendo feito a reutilização de nenhuma calda após a mesma ser submetida a pressão dentro do circuito de pulverização. Após o término do tempo da mistura (5 minutos), todos os ramais foram abertos simultaneamente, dando início a pulverização pelos bicos de pulverização e iniciando a contagem do tempo para realização das coletas.

Durante todo o processo de pulverização, a calda aplicada pelos bicos foi coletada por calhas metálicas (Figura 4), montadas logo abaixo das barras de pulverização e direcionadas a reservatórios de polietileno, onde posteriormente o material coletado foi destinado ao descarte correto.

Figura 4 - Calhas coletoras da pulverização



Fonte: Acervo próprio (2024)

Para realização das coletas das amostras, foram utilizados coletores universais estéreis com 50 mL de capacidade, sendo coletado cada amostra no bico mais distante da bomba seguindo pelo circuito de pulverização de cada barra, totalizando quatro amostras a cada coleta, sendo cada uma delas contabilizadas como uma repetição. Cada coletor foi utilizado apenas uma vez para evitar qualquer tipo de contaminação e, após as análises laboratoriais finalizadas, todos os coletores bem como o excedente de amostras coletadas foram submetidos a esterilização em autoclave para descarte, evitando qualquer tipo de contaminação.

Para as coletas, foram considerados cinco intervalos de tempo conforme (Tabela 4), iniciando a contagem de tempo simultaneamente a abertura dos ramais.

Tabela 4 - Tempos de coleta de cada amostra

Coleta	Tempo em minutos
T1	0
T2	10
T3	20
T4	30
T5	40

Com o objetivo de gerar amostras de testemunhas, ou seja, amostra da calda que não sofreram nenhum tipo de ação da pressão do sistema, com a finalidade de ser contabilizada a UFC, contida no produto comercial, foram feitas amostras no laboratório do Instituto Dashen seguindo as mesmas concentrações, adicionado a dose do produto em um becker graduado de 600 mL e agitadas em misturador magnético por cinco minutos.

As coletas realizadas no último bico de cada barra, ocorreram de forma simultâneas, impreterivelmente nos tempos citados anteriormente (Figura 5), de forma manual, diretamente no coletor estéril, que foi devidamente identificado, e aberto somente no momento da coleta e imediatamente fechado, após a inserção da amostra no coletor, para que não houvesse nenhum tipo de contaminação externa das amostra, após a realização das coletas as mesmas foram vedadas, e o material imediatamente acondicionado em uma caixa de transporte térmica, e enviadas ao laboratório de microbiologia da universidade, e o plaqueamento ocorreu em prazo máximo de 24 horas após a coleta, durante todo este período as amostras ficaram acondicionadas sob refrigeração, para que não ocorresse a morte de agentes biológicos. Após o esgotamento total da calda (água + fitossanitários biológicos), o equipamento foi submetido ao procedimento de tríplice lavagem, sendo adicionado 300 litros de água (50% da capacidade do reservatório), realizado o acionamento do equipamento e pulverizado todo o volume de água adicionado no reservatório, este procedimento foi repetido por três vezes utilizando apenas água, caracterizando a tríplice lavagem.

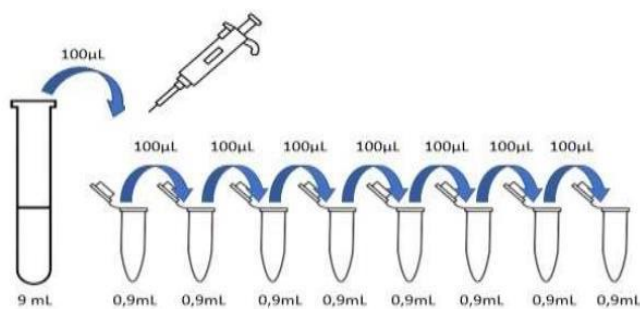
Ao termino da terceira e ultima lavagem, foram coletadas amostras, seguindo o mesmo procedimento das coletas das amostras, que foram inoculadas em placas de Petri com o objetivo de identificar uma possível contaminação entre os tratamentos, porem nenhuma placa apresentou multiplicação microbiana, deixando claro que o procedimento de limpeza do reservatório foi suficiente para eliminar qualquer tipo de material biológico do sistema de pulverização.

Figura 5 - Coleta das amostras

Fonte: Acervo próprio (2024)

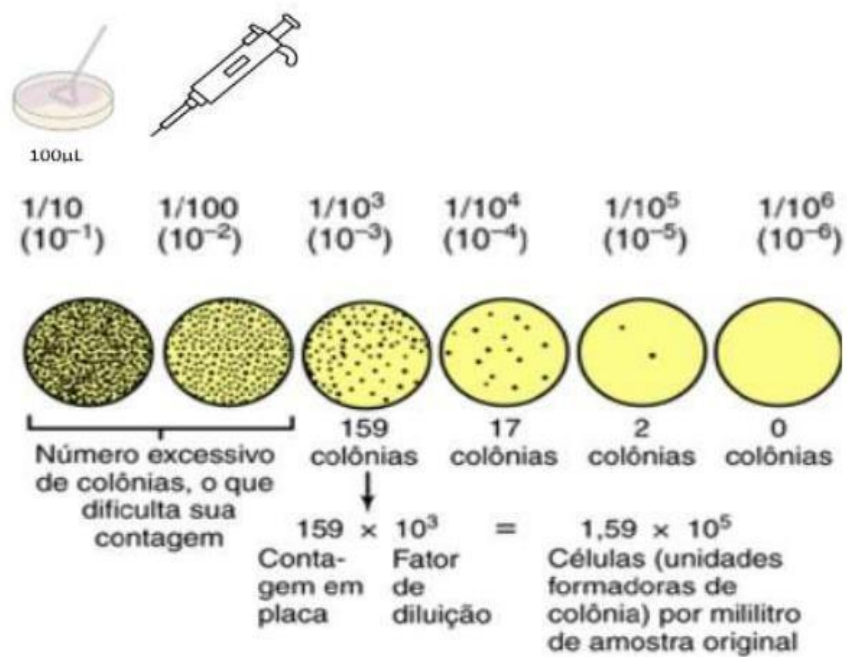
5.2 Avaliação do Crescimento Microbiano em placa de Petri

As avaliações do crescimento microbiano foram feitas através do método de diluição seriada (Figura 6), plaqueamento em meio sólido, de acordo com a Instrução Normativa 30 de 2010 (BRASIL, 2010), esfregaço com alça de Drigalsky (Figura 7) e técnica de gotas (Figura 8). Os meios sólidos utilizados foram: fixadores de nitrogênio de vida livre (NFB), Ágar Batata Dextrose (BDA), Ágar Triptona de Soja (TSA) (Tabela 5)

Figura 6 - Diluição seriada

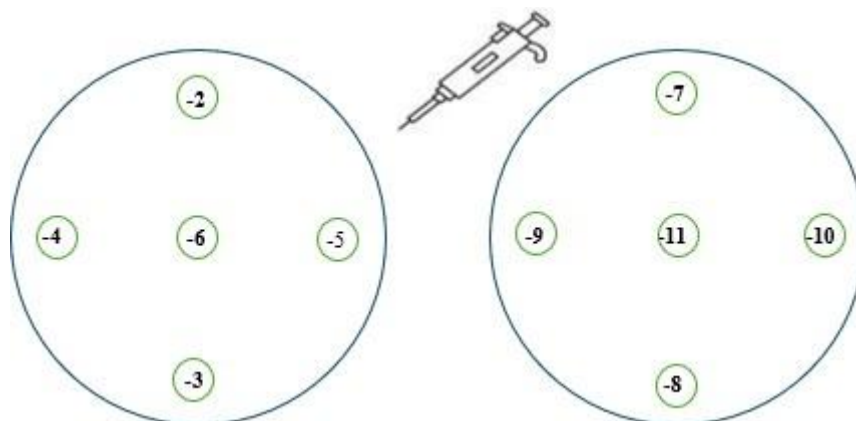
Fonte: Colonna, 2022

Figura 7 - Esfregaço com alça de Drigalsky



Fonte: Araújo, 2013

Figura 8 - Técnica de gotas



Fonte: próprio autor

Tabela 5 - Meios de cultura utilizados para análise do crescimento microbiana.

Meios de Cultura	Composição (g L ⁻¹)
Meio Fixadores De Nitrogênio De Vida Livre	KH ₂ PO ₄ 0,4 g; K ₂ HPO ₄ 0,1 g; MgSO ₄ 7H ₂ O 0,2 g; NaCl 0,1 g; CaCl ₂ 0,02 g; FeCl ₃ 0,01 g; MoO ₄ Na.2H ₂ O 0,002 g; maláto sódico 5,0 g; azul de bromotimol 0,5%, 5,0 mL, Ágar 15,0 g; H ₂ O destilada 1000 mL; pH ajustado com lentilhas de NaOH até ficar com o meio verde. pH 7,0.
Meio Tryptic-soy Agar (TSA) para bactérias heterotróficas cultiváveis	40,0 g TSA, 1000 mL de água destilada.
Meio ágar batata dextrose (BDA) para fungos cultiváveis	39,0 BDA, 1000 mL de água destilada.

Em microtubos do tipo Eppendorfs com 0,9 mL de solução salina à 0,85% de concentração foi realizada a diluição seriada 1/10 (10⁻⁸) para *B. Pumillus*, (10⁻⁶), para *Isaria fumosorosea* e *Azopirillum brasilienses*. Após a diluição, com a ajuda de uma alça de Drigalski, 50 µL das diluições foram inoculadas em placas de Petri nos respectivos meios de cultura específicos e seletivos (Tabela 5) e incubadas por 5 dias a 28°C em Câmara de crescimento com alternância de temperatura BOD (Demanda Bioquímica de Oxigênio). Após esse período, a população microbiana foi contabilizada e os resultados apresentados em log UFC mL⁻¹ para cada população microbiana.

5.3 Seleção de células viáveis, extração de DNA e quantificação de microrganismos por qPCR (Reação em Cadeia Polimerase quantitativo)

A seleção de células viáveis foi realizada utilizando 100 µL da cultura do bioinsumo, empregando metodologia baseada na ligação de corantes ao DNA, desenvolvida pela Gogenetic e adaptada de Van Frankenhuyzen *et al.* (2011). Em seguida, o DNA foi extraído por lise mecânica intensiva, seguida de purificação seletiva em

colunas com matriz de sílica (DNeasy PowerSoil Pro – QIAGEN). A quantificação do microrganismo foi conduzida por amplificação do DNA utilizando primers específicos para detecção de *Isaria spp.*, *Bacillus pumilus* e *Azospirillum brasilense*. O sistema de detecção de qPCR utilizado foi baseado em fluorescência intercalante do tipo SYBR.

A sequência dos primers e os parâmetros operacionais específicos seguem procedimento padrão interno e constituem protocolo proprietário da empresa Gogenetic, não sendo descritos em detalhe.

5.4 Análise estatística

A análise estatística dos resultados em placa de Petri foi realizada inicialmente através da verificação da normalidade da distribuição e da homogeneidade das variâncias, utilizando o teste de Shapiro-Wilk. Estes as médias foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey. Para os resultados quantitativos (pressão e tempo) foi realizada a Análise de Regressão para modelar o comportamento das variáveis e avaliar a relação de dependência entre elas. Nos resultados obtidos a partir da quantificação por qPCR foi submetido a análise de regressão polinomial. A escolha dos modelos (linear ou quadrático) foi fundamentada na significância dos coeficientes de regressão pelo teste F ($p < 0,05$) e no maior valor do coeficiente de determinação (R^2). Todas as análises foram executadas considerando um nível de significância de 5% ($p < 0,05$), utilizando o software Sisvar.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Viabilidade de *Bacillus pumilus* (Caravan®)

A avaliação da taxa de sobrevivência do *B. pumilus*, em placa de Petri verificou-se que a pressão influencia de maneira significativamente na morte celular, sendo que a partir da pressão de 600 kPa, a queda da sobrevivência é evidente. O tempo de recirculação da calda também influencia significativamente, nota-se que na pressão de 300 kPa a partir de 30 minutos é significativa queda de células viáveis, e nas demais pressões em 10 minutos é suficiente para a morte celular (Tabela 6).

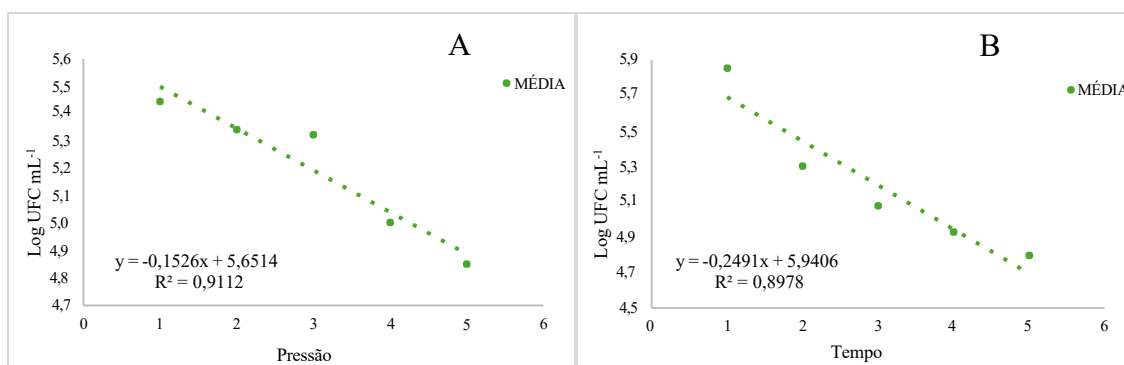
A análise de regressão linear revelou um efeito significativo ($p < 0,05$) da pressão (Figura 9A) e tempo (Figura 9B) sobre a sobrevivência do *B. pumilus*. Observou-se um ajuste linear negativo de $R^2=0,9112$ e $R^2=0,8978$, respectivamente.

Tabela 6 - Taxa de sobrevivência (UFC mL⁻¹) da bactéria *Bacillus pumilus* submetida a diferentes pressões e tempos de recirculação da calda em tanque de pulverização.

TEMPO (minutos)	PRESSÃO (kPa)				
	300	400	500	600	700
0	5,857 Aa	5,857 Aa	5,857 Aa	5,857 Aa	5,857 Aa
10	5,749 Aa	5,294 Bbc	5,314 Bb	4,962 Bc	5,194 Bbc
20	5,623 Aa	5,258 Bb	5,151 Bb	4,695 Bc	4,671 Cc
30	5,028 Bab	5,117 Bab	5,192 Ba	4,814 Bbc	4,504 Cc
40	4,969 Bab	5,189 Ba	5,108 Ba	4,690 Bb	4,033 Dc
C.V. (%)	3,39				

Dados: Médias seguidas de letra maiúscula na coluna e letras minúsculas na linha não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Figura 9 - Análise de regressão linear da taxa de sobrevivência (UFC mL⁻¹) da bactéria *Bacillus pumilus* submetida a diferentes pressões (A) e diferentes tempos (B) de recirculação da calda.



A exposição de células bacterianas a pressões hidrostáticas ou mecânicas elevadas pode causar a desnaturação de proteínas da membrana e a inativação de enzimas essenciais, levando à morte celular (GARCÍA *et al.*, 2010).

A passagem repetida do microrganismo pela bomba, e pelos bicos de pulverização gera um estresse físico que compromete a integridade da parede celular. No caso de *B. pumilus*, embora os endósporos possuam uma camada cortical protetora, a forma vegetativa é altamente suscetível a essas variações de pressão (GITAU *et al.*, 2013).

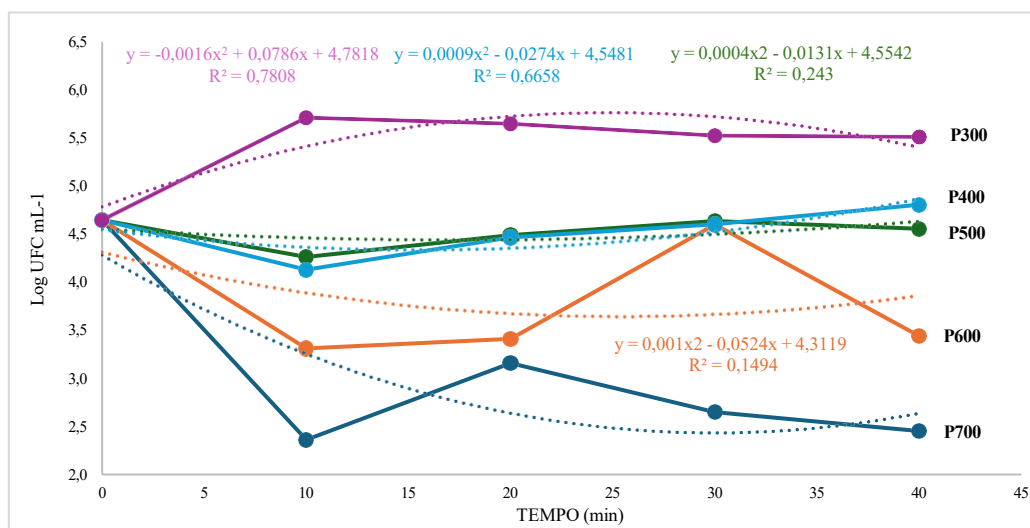
A queda de sobrevivência em apenas 10 minutos nas pressões mais altas indica uma mortalidade acelerada por fadiga estrutural, o tempo de exposição ao estresse é um fator tão determinante quanto a magnitude da força aplicada. Isso explica por que, na pressão de 300 kPa, o microrganismo resistiu por até 30 minutos, enquanto pressões maiores causaram o colapso celular de forma quase imediata (VELLIUO *et al.*, 2012).

Essa dinâmica é crucial para a tecnologia de aplicação, pois, a manutenção da eficácia biológica depende da operação dentro de limites de pressão que não ultrapassem o limiar de resistência mecânica do agente de controle (MATTHEWS, 2018).

A análise molecular via qPCR apresentou resultados consistentes com os obtidos pelo método de plaqueamento em Petri. Observou-se que a população microbiana de *B. pumilus* (Caravan®) foi influenciada pelos níveis de pressão, embora as pressões intermediárias (400, 500 e 600 kPa) não tenham apresentado diferenças significativas entre si. Contudo, nas pressões extremas, o comportamento foi distinto, em 300 kPa, houve um incremento na detecção da população que se manteve estável ao longo do tempo ($R^2=0,6391$), enquanto a pressão de 700 kPa ocasionou uma redução acentuada na concentração de DNA de células viável ($R^2=0,7808$). A representação da linha de tendência, ilustra a alta estabilidade deste microrganismo, com todas as linhas de pressão mais baixas se mantendo quase planas e muito próximas ao nível da Testemunha. Esta alta resiliência é atribuída à sua natureza de bactéria formadora de esporos. A estrutura esporulada confere proteção ao estresse de cisalhamento e hidrodinâmico gerado pela alta pressão no circuito, permitindo a utilização de produtos à base de *Bacillus* dentro da faixa operacional padrão dos pulverizadores (Figura 10).

As bactérias do gênero *Bacillus* apresentam alta tolerância a estresses mecânicos devido à presença de endósporos, cujas camadas de proteínas e peptidoglicano protegem o DNA contra forças de cisalhamento e variações de pressão hidrodinâmica (PINTO, 2016). No entanto, a queda expressiva na população microbiana sob a pressão de 700 kPa sugere que existe um limite crítico de resistência. Embora o qPCR detecte fragmentos de DNA, a redução significativa do sinal molecular indica que pressões elevadas podem causar a lise celular ou danos severos ao capsídeo esporulado, expondo o material genético à degradação. Setlow (2014) afirma que, embora os esporos sejam extremamente resistentes, a combinação de pressão e turbulência em circuitos hidráulicos pode comprometer a barreira de permeabilidade da membrana interna, resultando na perda de dipicolinato de cálcio e subsequente inativação.

Figura 10 - Viabilidade de *Bacillus pumilus* (Log UFC mL⁻¹) em função da pressão e do tempo, pela análise de qPCR



6.2 Viabilidade de *Azospirillum brasilense* spp. (Azokop[®])

Os resultados da análise de sobrevivência da bactéria *A. brasilense* via plaqueamento revelaram uma elevada sensibilidade do microrganismo ao incremento da pressão e ao tempo de recirculação no reservatório de pulverização. Sob pressão 300 kPa não foi observado efeito deletério imediato. Pelo contrário, verificou-se um incremento da populacional conforme o tempo aumentou. Contudo, o aumento da pressão hidrodinâmica correlacionou-se inversamente com a sobrevivência da bactéria, atingindo a menor taxa populacional na combinação de 700 kPa e 40 minutos de recirculação (Tabela 7).

Essa tendência se confirma pela análise de regressão, com o aumento da pressão (Figura 11A) e do tempo (Figura 11B) apresentou uma queda significativa da população ($p < 0,05$), com ajuste linear negativo de $R^2 = 0,8006$ e $R^2 = 0,9336$ respectivamente.

Na análise via qPCR corroborou a vulnerabilidade do *A. brasilense*, apresentando redução populacional em todas as pressões testadas. Os dados ajustaram-se a modelos polinomiais ($R^2 > 0,57$), evidenciando um declínio acentuado, com destaque para a pressão de 700 kPa, na qual não houve detecção de *Azospirillum* spp. logo nos tempos iniciais (Figura 12). Tais resultados indicam uma correlação direta entre o número de ciclos da calda e a redução da viabilidade, sugerindo que as células vegetativas são altamente suscetíveis ao estresse de cisalhamento prolongado.

Tabela 7 - Análise em placa de Petri da taxa de sobrevivência (UFC mL⁻¹) da bactéria *Azospirillum brasilense* submetida a diferentes pressões e tempos de re-circularização da calda em tanque de pulverização.

TEMPO (minutos)	PRESSÃO (kPa)				
	300	400	500	600	700
0	3,646 Ca	3,646 Aa	3,646 Aa	3,646 Aa	3,646 Aa
10	3,741 BCa	3,574 Aab	3,720 Aa	3,471 ABab	3,008 ABb
20	4,148 BCa	3,533 Aab	3,392 Ab	3,382 ABb	2,687 BCc
30	4,340 ABA	3,564 Ab	3,301 Ab	3,020 ABbc	2,511 BCc
40	4,936 Aa	3,544 Ab	3,525 Abc	2,841 Bc	2,122 Cd
C.V. (%)	10,08				

Dados: Médias seguidas de letra maiúscula na coluna e letras minúsculas na linha não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Figura 11 - Análise de regressão linear da taxa de sobrevivência (UFC mL⁻¹) da bactéria *Azospirillum brasilense* submetido a diferentes pressões (A) e diferentes tempos (B) de recirculação da calda

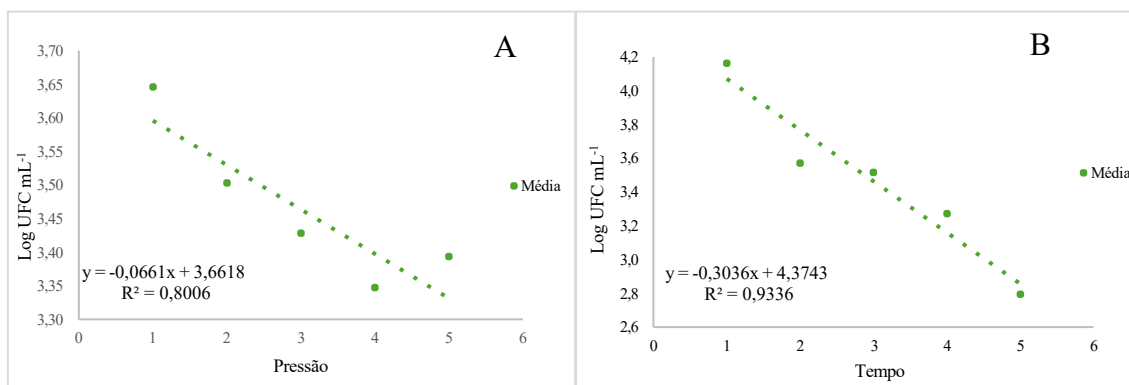
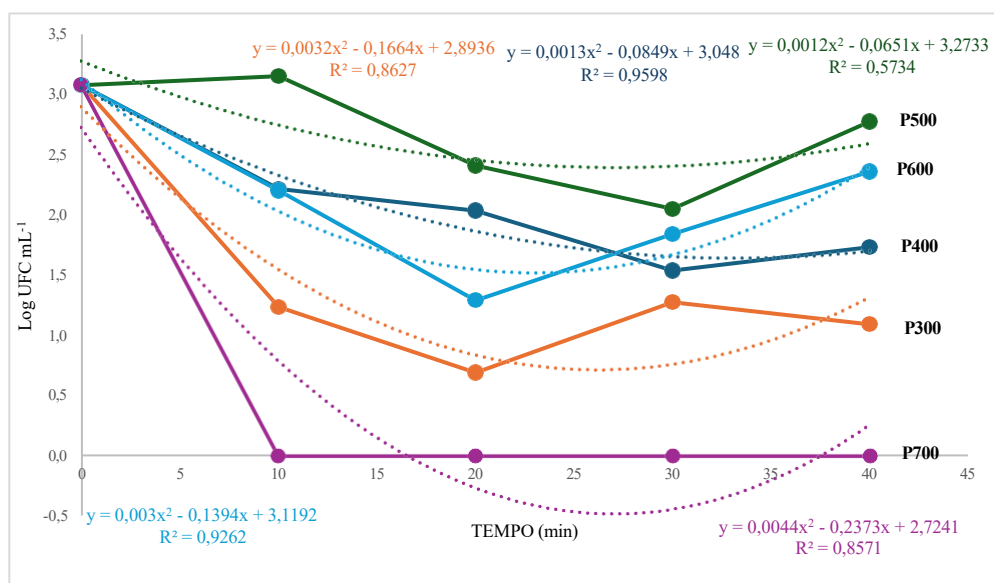


Figura 12 - Viabilidade de *Azospirillum brasilense* spp. (Log UFC mL⁻¹) em função da pressão e do tempo, pela análise de qPCR



A elevada sensibilidade de *A. brasilense* às pressões superiores a 300 kPa e ao tempo de recirculação reflete a vulnerabilidade intrínseca das células vegetativas ao estresse físico. Ao contrário de bactérias Gram-positivas, as Gram-negativas possuem uma parede celular composta por uma fina camada de peptidoglicano e uma membrana externa rica em lipopolissacarídeos, que oferecem menor proteção contra a deformação mecânica. Segundo Brito *et al.* (2022), o cisalhamento gerado pela passagem da calda através de bombas e bicos de pulverização pode induzir a lise celular imediata em bactérias diazotróficas, o que justifica a queda acentuada observada tanto no plaqueamento quanto no qPCR.

O ajuste linear negativo com alto coeficiente de determinação (R²=0,9336) para o tempo de recirculação demonstra que a exposição contínua ao sistema hidráulico é um fator limitante crítico. A agitação mecânica e a recirculação constante no reservatório de pulverização promovem um estresse hidrodinâmico cumulativo, elevando a temperatura da calda e reduzindo a viabilidade de células não protegidas. No presente estudo, a ausência de detecção de *Azospirillum* spp. via qPCR sob 700 kPa sugere não apenas a morte celular, mas a fragmentação completa do material genético devido à intensidade da pressão exercida (SANTOS *et al.*, 2021).

Um aspecto relevante foi o incremento populacional observado aos 40 minutos sob pressões baixas. Este fenômeno pode ser interpretado como uma resposta adaptativa momentânea ou a reativação de células que estavam em estado de dormência inicial. Para

microrganismos sensíveis, qualquer benefício de tempo é anulado caso a pressão ultrapasse os limites de resistência da membrana citoplasmática (SOUZA *et al.*, 2023). Portanto, a recomendação técnica para a aplicação de *A. brasilense* deve priorizar pressões de trabalho reduzidas e menor tempo de permanência no reservatório, visando preservar a eficácia do inoculante no campo.

6.3 Viabilidade de *Isaria fumosorosea* (Octane®)

A sobrevivência do fungo entomopatogênico *I. fumosorosea* analisada pelo plaqueamento, revelou uma redução pontual na contagem aos 10 minutos em todas as pressões testadas. Embora este comportamento possa sugerir um erro amostral isolado, a análise nas pressões 300, 400 e 500 kPa demonstrou estabilidade populacional, indicando que, em níveis moderados, nem a pressão nem o tempo de exposição exerceram efeitos deletérios sobre o fungo. Em contrapartida, sob pressões de 600 e 700 kPa, observou-se um impacto negativo imediato na viabilidade fúngica logo nos primeiros intervalos de avaliação (Tabela 8).

Na análise de regressão linear confirmou a influência significativa da pressão ($p < 0,05$) sobre a população fúngica, demonstrando uma tendência de ação deletéria conforme o incremento da pressão ($R^2 = 0,7664$; Figura 12A). Todavia, na análise em função do tempo, essa tendência de queda não foi linearmente consistente ($R^2 = 0,0747$; Figura 13B), resultado influenciado pela oscilação atípica ocorrida aos 10 minutos.

Os resultados obtidos via qPCR corroboraram os dados de plaqueamento, evidenciando a redução da viabilidade fúngica proporcional ao aumento da pressão e do tempo. Nas pressões de 600 e 700 kPa, houve reduções expressivas de 14% e 18%, respectivamente, com altos coeficientes de determinação ($R^2 = 0,89$ e $R^2 = 0,94$). Enquanto as pressões baixas mantiveram-se estatisticamente iguais à testemunha, o distanciamento vertical das linhas no gráfico de qPCR (Figura 14) ilustra o impacto severo da alta pressão sobre a integridade do material genético de *I. fumosorosea*.

O efeito Tempo (Ciclo), o declive acentuado foi observado na pressão 600 e 700 kPa, indica que a recirculação é altamente prejudicial. Em 700 kPa, a viabilidade caiu de 5,053 Log UFC mL⁻¹ (40 minutos) para 5,00 Log UFC mL⁻¹ (30 minutos) (Figura 15).

Essa sensibilidade extrema é justificada pela fragilidade estrutural dos esporos e micélios fúngicos, que são vulneráveis às forças de cisalhamento e atrito geradas pelo bombeamento, resultando na destruição ou inativação das estruturas.

Tabela 8 - Taxa de sobrevivência (UFC mL⁻¹) do fungo *Isaria fumosorosea* submetido a diferentes pressões e tempos de recirculação da calda em tanque de pulverização.

TEMPO (minutos)	PRESSÃO (kPa)				
	300	400	500	600	700
0	7,520 Aa	7,520 Aa	7,520 Aa	7,520 Aa	7,520 Aa
10	6,707 Ba	6,565 Ba	6,646 Ba	6,734 Ba	6,747 Ba
20	7,495 Aa	7,274 Aa	7,357 Aa	6,564 Bb	6,452 Bb
30	7,647 Aa	7,324 Aa	7,508 Aa	6,648 Bb	6,615 Bb
40	7,207 ABa	7,270 Aa	7,391 Aa	6,601 Bb	6,656 Bb
C.V. (%)	3,88				

Figura 13 - Análise de regressão linear da taxa de sobrevivência (UFC mL⁻¹) de *Isaria fumosorosea* submetido a diferentes pressões (A) e diferentes tempos (B) de recirculação da calda

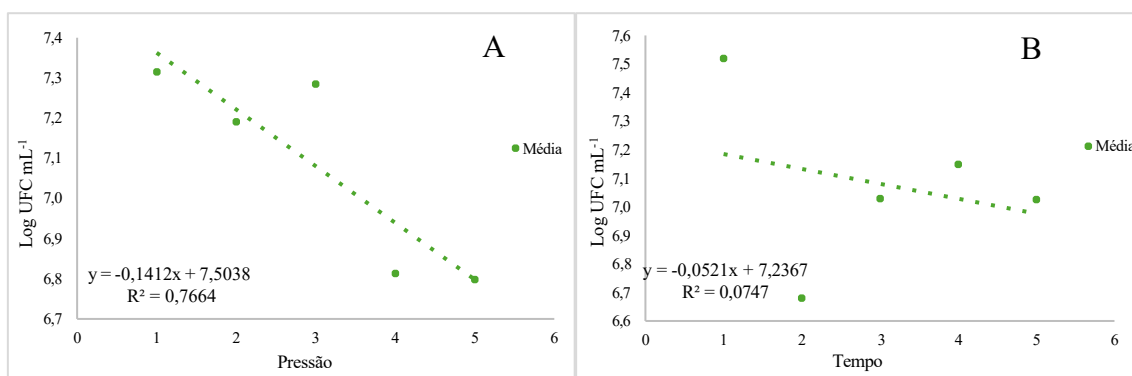
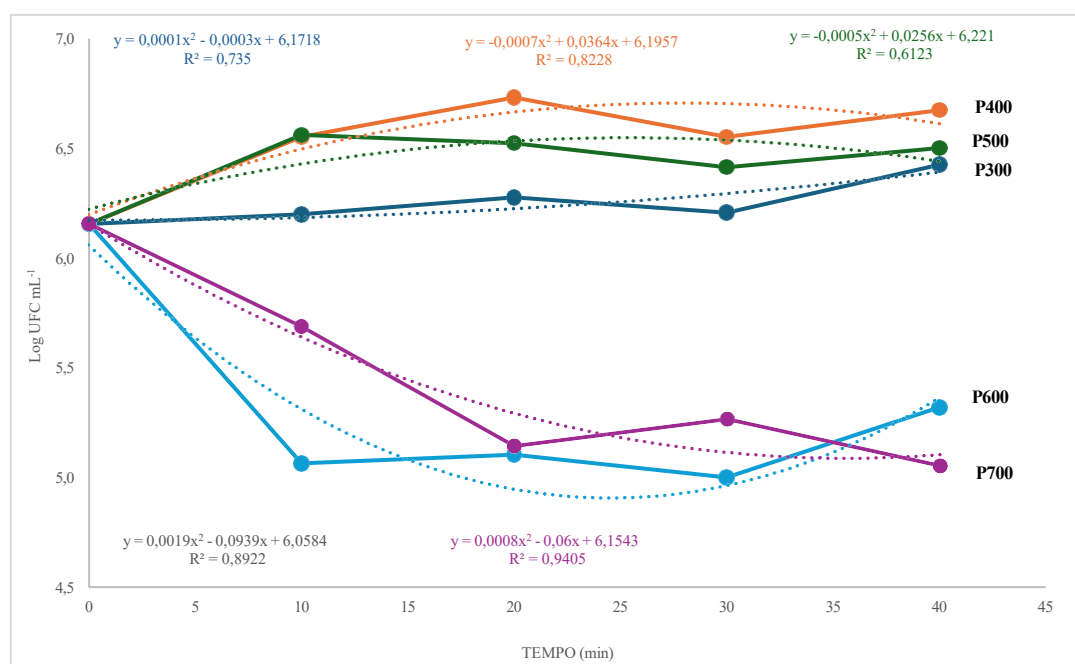


Figura 14 - Viabilidade de *Isaria fumosorosea* (Log UFC/mL⁻¹) em função da pressão e do tempo



A sensibilidade de *I. fumosorosea* observada sob pressões de 600 e 700 kPa indica que os propágulos fúngicos possuem um limiar de resistência mecânica inferior ao de bactérias esporuladas. Esse comportamento é comum em fungos entomopatogênicos, cujos conídios são estruturas hidrofóbicas e relativamente frágeis quando submetidos à turbulência hidráulica. Segundo Mascarin *et al.* (2019), a exposição de blastósporos e conídios de *Isaria* spp. a tensões de cisalhamento em sistemas de aplicação pode causar o desprendimento de camadas da parede celular ou a desidratação súbita, comprometendo a viabilidade imediata e a futura germinação no alvo.

A divergência entre o efeito da pressão ($R^2=0,7664$) e do tempo ($R^2=0,0747$) sugere que o dano ao fungo é causado mais pela intensidade do impacto (pressão) do que pela duração da exposição ao sistema. Oliveira *et al.* (2021) ressaltam que a passagem pelo bico de pulverização e a colisão com as paredes do circuito sob alta pressão geram uma força de impacto que pode romper o invólucro do conídio instantaneamente. Isso explica por que a queda populacional foi observada já no primeiro momento (10 minutos) nas pressões mais elevadas.

A correlação positiva entre os dados de plaqueamento e qPCR (R^2 até 0,94) demonstra que a redução na contagem de colônias não é apenas uma inibição metabólica temporária, mas uma degradação física das estruturas fúngicas. Conforme discutido por Brambully *et al.* (2023), pressões acima de 500 kPa em caldas contendo agentes biológicos tendem a fragmentar o material genético e as membranas plasmáticas devido ao atrito hidrodinâmico severo.

Para *I. fumosorosea*, a manutenção da estabilidade em pressões de até 500 kPa é um dado fundamental para o manejo integrado, indicando que o fungo é compatível com tecnologias de aplicação padrão, desde que se evite o uso de pressões extremas que desintegrem os conídios antes mesmo da sua deposição na praga-alvo.

7. CONCLUSÃO

A avaliação da sobrevivência dos agentes biológicos submetidos ao estresse hidrodinâmico revelou que a pressão e o tempo de recirculação exercem efeitos distintos, dependendo da natureza morfológica de cada espécie.

A maior estabilidade foi observada em *Bacillus pumilus*. Sua capacidade de formar endósporos conferiu proteção superior contra as forças de cisalhamento, mantendo

a viabilidade estável mesmo em pressões elevadas. Isso permite sua utilização em uma ampla janela operacional sem perda de eficácia biológica.

O fungo *Isaria fumosorosea* apresentou uma resistência intermediária. Embora estável em pressões de até 500 kPa, demonstrou sensibilidade aguda ao impacto mecânico imediato sob 600 e 700 kPa, sugerindo que a integridade dos seus conídios é vulnerável a choques de pressão, independentemente do tempo de exposição.

A maior sensibilidade foi registrada para *Azospirillum brasilense*. Por ser uma bactéria Gram-negativa e não esporulada, sua parede celular delgada não suportou o estresse cumulativo, apresentando quedas populacionais drásticas tanto por pressão quanto por tempo de recirculação.

A convergência entre os dados de plaqueamento e as análises de qPCR confirmou que as pressões críticas (acima de 600 kPa) não causam apenas a inativação metabólica, mas a degradação física e fragmentação do material genético dos propágulos.

Recomendações Técnicas

Os resultados indicam que a tecnologia de aplicação de produtos biológicos deve ser customizada:

Para *Bacillus* spp.: Há maior flexibilidade de pressão e tempo de agitação.

Para *Isaria* spp.: Recomenda-se evitar pressões acima de 500 kPa para preservar a viabilidade dos conídios.

Para *Azospirillum* spp.: A aplicação deve ser imediata e sob baixas pressões (máximo 300 kPa), visando minimizar a lise das células vegetativas e garantir o potencial de inoculação no campo.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAD, L. K. P. **Seletividade da mistura em tanque com inseticidas e bioinseticida à base de *Bacillus thuringiensis* sobre *Trichogramma pretiosum***. - Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2025, 69f.

ALVES, S. B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 289-381.

ARAÚJO, W. L. **Manual de Aulas Práticas de Microbiologia**. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas (ICB-USP), 2013.

BAPTISTA, I. C. M. A importância do Brasil na produção de alimentos para suprir a demanda mundial. In: BAPTISTA, I. C. M. (org.). **Perspectivas atuais da sustentabilidade: cenários internacional e brasileiro**. [S. l.: s. n.], 2024. p. 63.

BELCHIOR, D. C. V.; SARAIVA, A. S.; LÓPEZ, A. M. C.; SCHEIDT, G. N. Impactos de agrotóxicos sobre o meio ambiente e a saúde humana. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v. 34, n. 1, p. 135-151, jan./abr. 2017.

BRAMBULLY, G. S.; SANTOS, J. R.; GANDOLFO, M. A.; ANTUNIASSI, U. R.; MODOLO, A. J.; CHECHETTO, R. **Stability of entomopathogenic fungi under high-pressure spray systems**. *Journal of Biopesticides and Environment*, [s. l.], v. 12, n. 4, p. 210-225, 2023.

BRASIL. **Decreto nº 10.375, de 26 de maio de 2020**. Institui o Programa Nacional de Bioinsumos e o Conselho Estratégico do Programa Nacional de Bioinsumos. Brasília, DF: Presidência da República, 2020. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2019-2022/2020/decreto/d10375.htm. Acesso em: 7 nov. 2025.

BRASIL. **Lei nº 15.070, de 23 de dez. de 2024**. Dispõe sobre o marco regulatório dos bioinsumos e dá outras providências. Brasília, DF: Presidência da República, 2024. Disponível em: <https://www.planalto.gov.br>. Acesso em: 10 nov. 2025.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Programa Nacional de Bioinsumos**. Brasília, DF: MAPA, 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/bioinsumos>. Acesso em: 14 fev. 2026.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. **Ato nº 63, de 20 de jan. de 2026**: Balanço anual de registros de produtos fitossanitários e bioinsumos no Brasil. Brasília, DF: MAPA/SDA, 2026. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura>. Acesso em: 14 fev. 2026.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 30, de 12 de nov. de 2010. Estabelece procedimentos para registro de agentes biológicos de controle. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 16 nov. 2010. Disponível em: <https://www.in.gov.br>.

BRITO, L. F.; REATTO, A.; FERREIRA, E. P. B.; SILVA, O. C.; DENARDIN, J. E. Mechanical stress and its impacts on the viability of diazotrophic bacteria during agricultural application. **Journal of Agricultural Science**, [s. l.], v. 14, n. 3, p. 45-56, 2022.

BUENO, A. F.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; GUEDES, Y. M. V. **Compatibilidade no uso de bioinsumos e insumos sintéticos no manejo da cultura da soja**. [S. l.: s. n.], 2022.

CAFFAGNI, L. C. A radiografia dos agroquímicos. **AgroANALYSIS**, v. 42, n. 5, p. 20-22, 2022.

CARSON, R. **Silent spring**. 1962. New York: Mariner Books, 2009.

CHRISTOFOLETTI, J. C. **Manual Shell de máquinas e técnicas de aplicação de produtos fitossanitários agrícolas**. São Paulo: Shell Brasil S.A., 1992. 122 p.

CLIMAINFO. **Comercialização de agrotóxicos no Brasil bate recorde em 2024: impacto da expansão da soja**. São Paulo: Instituto ClimaInfo, 22 jan. 2026. Disponível em: <https://climainfo.org.br>. Acesso em: 14 fev. 2026.

COLONNA-ROMANO, S.; FANTI, L. **Dynamics of microbial communities in serial dilution experiments**. *Physical Review E*, [S. l.], v. 106, n. 4, p. 044412, out. 2022. Disponível em: <https://journals.aps.org/pre/abstract/10.1103/PhysRevE.106.044412>. Acesso em: 21 fev. 2026.

CULTIVAR (Revista). Área tratada por defensivos cresce 1,8% no 1º trimestre de 2025. **Revista Cultivar**, [S. l.], 11 nov. 2025. Disponível em: <https://revistacultivar.com.br>. Acesso em: 26 nov. 2025.

FAO. **FAOSTAT**. 2022. Disponível em: <http://faostat.fao.org/beta/en/#data/QC>.

VAN FRANKENHUYZEN, J. K.; TREVORS, J. T.; LEE, H.; FLEMMING, C. A.; HABASH, H. Molecular pathogen detection in biosolids with a focus on quantitative PCR using propidium monoazide for viable cell enumeration. **Journal of Microbiological Methods**, [s. l.], v. 87, n. 3, p. 263-272, 2011.

GARCÍA, D.; MAÑAS, N.; CONDÓN, S.; ÁLVAREZ, I.; PAGÁN, R. Inactivation of microorganisms by high hydrostatic pressure: a review. **Biosystems Engineering**, [s. l.], v. 105, n. 1, p. 1-11, 2010.

GITAU, A. N.; GUMBE, L. O.; MUTUA, J. Effect of spray nozzle and pressure on the viability of *Bacillus thuringiensis*. **International Journal of Agriculture and Forestry**, [s. l.], v. 3, n. 6, p. 235-241, 2013.

GUIDUCCI, R.; HIRAKURI, M. H. **Sistemas de produção de grãos e risco econômico em áreas consolidadas e de expansão agrícola no Brasil**. [S. l.: s. n.], 2020.

HESS, P. R.; CASTRO, N. R.; OZAKI, V. A.; CARVALHO, H. Evolução do mercado de defensivos agrícolas no Brasil (2010-2020). **Revista de Economia e Sociologia Rural**, Brasília, v. 58, n. 2, p. 1-15, 2020.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). **Nota pública acerca do posicionamento do Instituto Nacional de Câncer sobre o Projeto de Lei nº 6.299/2002**. Rio de Janeiro: INCA, 2018. Disponível em: <https://www.inca.gov.br>.

JACTO. **Uniport 3030 Otmis**: manual de instruções. Edição 06/2024. Pompéia: Máquinas Agrícola Jacto S.A., 2024.

JOHN DEERE BRASIL. **Pulverizadores Autopropelidos M4030 e M4040 (Número de Série 180000— 189999)**: manual do operador. Edição E1. [S. l.]: John Deere, 2021.

KYNETEC. **Painel FarmTrak Bioinsumos**: mercado de biopesticidas atinge R\$ 4,35 bilhões na safra 2024/25. Curitiba: Kynetec Brasil, 13 nov. 2025. Disponível em: <https://www.kynetec.com/pt-br>. Acesso em: 14 fev. 2026.

MADDALENA, A.; OLIVEIRA, J.; LIMA, M. H. M.; SOUZA, R. S.; RANGEL, D. E. N. Avaliação do efeito de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* sobre ovos de *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797). **Journal of Environmental Analysis and Progress**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 060-064, 2024.

MAPA; EMBRAPA. **Bioinsumos**: inovação e sustentabilidade no campo. Brasília, DF: Embrapa, 2021.

MARRONE, P. G. Status of the biopesticide market and prospects for new bioherbicides. **Pest Management Science**, v. 80, n. 1, p. 81-86, 2024.

MASCARIN, G. M.; KOBORI, N. N.; FERNANDES, É. K. K.; JARONSKI, S.; ARTHURS, S. P. Formulation of blastospores of the fungus *Isaria fumosorosea* for the control of *Bemisia tabaci*. **Biological Control**, [s. l.], v. 132, n. 1, p. 30-41, 2019.

MATTHEWS, G. A. **Pesticide Application Methods**. 4. ed. Oxford: Wiley-Blackwell, 2018. 512 p.

MATUO, T. **Técnicas de aplicação de defensivos agrícolas**. Jaboticabal: Funep, 1990. 139 p.

MERARA, K. B.; HAMMADA, M. B.; HASSANI, N. B. **Les PGPR et leur impact sur les mécanismes de bio contrôle**. 2022. 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Sciences de la Nature et de la Vie, 2022.

MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. **Bioinsumos na cultura da soja**. Brasília: Embrapa, 2022. 550 p.

NASCIMENTO, J. **O sistema imune de *Spodoptera frugiperda* influencia a sua suscetibilidade de mistura de produtos químicos e biológicos?** 2024.

OLIVEIRA, R. M.; ALMEIDA, S. J.; RIBEIRO, C. F.; CASTRO, L. A.; SILVA, P. G. Efeito do estresse mecânico sobre a germinação e viabilidade de fungos biocontroladores. **Revista de Agronomia Sustentável**, Curitiba, v. 15, n. 2, p. 45-58, 2021.

PERES, F. **É veneno ou é remédio?** Os desafios da comunicação rural sobre agrotóxicos. 1999. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 1999.

PINTO, M. F. **Sobrevivência de esporos de *Bacillus thuringiensis* sob diferentes condições de pressão hidrostática e hidrodinâmica**. 2016. 54 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Energia na Agricultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, 2016.

QUEIROZ, S. C. N.; OLIVEIRA, M. M.; FERRACINI, V. L.; SILVA, F. C. **Bioinsumos de origem vegetal para uso na agricultura**. [S. l.: s. n.], 2025.

RAETANO, C. G.; BOLLER, W. **Tecnologia de aplicação para culturas anuais**. 2. ed. [S. l.: s. n.], 2019.

SANTOS, J. P.; MATSUMOTO, L. S.; GANDOLFO, M. A.; DÁRIO, G.; NICOLOSI, M. M. Efeito da pressão de pulverização e do tempo de calda sobre a sobrevivência de inoculantes líquidos. **Revista de Tecnologia Aplicada**, Curitiba, v. 10, n. 2, p. 88-102, 2021.

SANTOS, J. R.; GANDOLFO, M. A.; ANTUNIASSI, U. R.; MODOLO, A. J.; CHECHETTO, R. Influência da tecnologia de aplicação na sobrevivência de microrganismos em caldas fitossanitárias. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 27, n. 4, p. 312-319, 2023.

SETLOW, P. Spore resistance properties. **Microbiology Spectrum**, [s. l.], v. 2, n. 5, p. 1-15, 2014.

SILVA, F. H. K. P.; MARCHESAN, J.; OLIVEIRA, D. C.; CALDEIRA, M. V. W. Agrotóxicos no Brasil: uma compreensão do cenário atual de utilização e das propriedades do solo que atuam na dinâmica e retenção destas moléculas. **Research, Society and Development**, [s. l.], v. 11, n. 9, p. e7911931614, 2022.

SOUZA, T. R.; CASTRO, L.; SANTOS, F. M.; SILVA, A. L.; FERREIRA, P. H. Resilience of Gram-negative and Gram-positive bacteria in modern spray systems. **Agronomy Research Quarterly**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 202-215, 2023.

STEINKE, E.; GILES, D. K. Delivery Systems for Biorational Agents. In: HALL, F. R.; BARRY, J. W. (Ed.). **Biorational pest control**. [S. l.: s. n.].

TAVELLA, L. B.; SANTOS, M. G.; GALVÃO, V. L. A.; GALVÃO, S. C. S. O uso de agrotóxicos na agricultura e suas consequências toxicológicas e ambientais. **Agropecuária Científica no Semi-Árido**, Santa Cecília, v. 7, n. 2, p. 06-12, 2011.

VELLIOU, E. G.; SEIBERT, M. M.; ANAND, T. J. S.; VAN ESBROECK, H. P. W.; VAN DER HEIJDEN, A. M. P. G. The effect of mechanical and environmental stress on the inactivation of bacterial cells. **Journal of Applied Microbiology**, [s. l.], v. 112, n. 3, p. 450-462, 2012.

ZAMBON, S. C.; GANDOLFO, M. A.; MATSUMOTO, L. S.; MODOLO, A. J.; CHECHETTO, R. Estresse mecânico e viabilidade de fungos entomopatogênicos sob diferentes pressões de pulverização. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 56, e02345, 2021.