

Controle Biológico de Pragas da Agricultura

Eliana Maria Gouveia Fontes
Maria Cleria Valadares-Inglis

Editoras Técnicas



Embrapa

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

CONTROLE BIOLÓGICO DE PRAGAS DA AGRICULTURA

*Eliana Maria Gouveia Fontes
Maria Cleria Valadares-Ingliš*

Editoras técnicas

*Embrapa
Brasília, DF
2020*

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Parque Estação Biológica (PqEB)
Av. W5 Norte (final)
70770-917 Brasília, DF
Fone: (61) 3448-4700
Fax: (61) 3340-3624
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Responsável pelo conteúdo

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Comitê de Publicações

Presidente

Marília Lobo Burle

Secretária-executiva

Ana Flávia do Nascimento Dias Côrtes

Membros

Antonieta Nassif Salomão

Diva Maria Alencar Dusi

Francisco Guilherme Vergolino Schmidt

João Batista Tavares da Silva

João Batista Teixeira

Maria Cleria Valadares-Inglis

Tânia da Silveira Agostini Costa

Suplentes

Bianca Damiani Marques da Silva

Rosameres Rocha Galvão

Embrapa

Parque Estação Biológica
Av. W3 Norte (final)
70770-901 Brasília, DF
Fone: (61) 3448-4236
Fax: (61) 3448-2494
www.embrapa.br/livraria
livraria@embrapa.br

Responsável pela edição

Embrapa, Secretaria-Geral

Coordenação editorial

Alexandre de Oliveira Barcellos

Heloiza Dias da Silva

Nilda Maria da Cunha Sette

Supervisão editorial

Waldir Aparecido Marouelli

Revisão de texto

Francisca Elijani do Nascimento

Jane Baptistone de Araújo

Normalização bibliográfica

Márcia Maria Pereira de Souza

Rejane Maria de Oliveira

Projeto gráfico e diagramação

Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Arte-final da capa

Paula Cristina Rodrigues Franco

1ª edição

1ª impressão (2020): 1.000 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei n° 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Secretaria-Geral da Embrapa

Controle biológico de pragas da agricultura / Eliana Maria Gouveia Fontes, Maria Cleria Valadares-Inglis, editoras técnicas. – Brasília, DF : Embrapa, 2020.
510 p. : il. color. ; 18,5 cm x 25,5 cm.

ISBN 978-65-86056-01-3

1. Inimigo natural. 2. Controle microbiano. 3. Doença de planta. 4. Planta invasora. 5. Predador. 6. Parasitoide. I. Fontes, Eliana Maria Gouveia. II. Valadares-Inglis, Maria Cleria. III. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

CDD 632.96

AUTORES

Bárbara Eckstein

Engenheira-agrônoma, doutora em Fitopatologia, pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

Bergmann Morais Ribeiro

Biólogo, Ph.D. em Microbiologia, professor da Universidade de Brasília, Brasília, DF

Carlos Marcelo Silveira Soares

Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia, sócio-gerente da Marvin Bio-Skills, Brasília, DF

Carmen Silvia Soares Pires

Bióloga, Ph.D. em Biologia, pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

Claudia de Melo Dolinski

Engenheira-agrônoma, Ph.D. em Fitopatologia, professora da Universidade Estadual do Norte Fluminense, Rio de Janeiro, RJ

Daniel Diego Costa Carvalho

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, professor da Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, GO

Daniela Macêdo Jorge

Bióloga, mestre em Toxicologia e Microbiologia, especialista da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília, DF

Davi Mesquita de Macedo

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, bolsista de pós-doutorado na Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG

Denise Navia

Bióloga, doutora em Entomologia, pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

Diego Martins Magalhães

Biólogo, doutor em Zoologia, bolsista de pós-doutorado da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

Eder Marques

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, professor da Faculdade Integradas, Brasília, DF

Edison Ryoiti Sujii

Engenheiro-agrônomo, doutor em Ecologia, pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

Eduardo Guatimosim

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, professor da Universidade Federal do Rio Grande, São Lourenço do Sul, RS

Eliana Maria Gouveia Fontes

Bióloga, Ph.D. em Entomologia, pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

Érica Soares Martins

Bióloga, doutora em Ciências Biológicas, pesquisadora do Instituto Mato-Grossense do Algodão, Cuiabá, MT

Érica Sevilha Harterreiten-Souza

Bióloga, doutora em Ecologia, técnica da Universidade de Brasília, Brasília, DF

Fernanda Álvares da Silva

Bióloga, doutora em Bioquímica Animal, analista da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

Fernando Hercos Valicente

Engenheiro-agrônomo, Ph.D. em Entomologia Genética Molecular, pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG

Glaucia de Figueiredo Nachtigal

Engenheira-agrônoma, doutora em Agronomia, pesquisadora da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS

Gilberto José de Moraes

Engenheiro-agrônomo, Ph.D. em Entomologia, professor da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (Esalq), Piracicaba, SP

Ízabela Mascarenhas Matosinhos de Sousa

Bióloga, especialista em Toxicologia Aplicada à Vigilância Sanitária, analista do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, Brasília, DF

Leandro Grassi de Freitas

Engenheiro-agrônomo, Ph.D. em Fitopatologia, professor da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG

Lilian Botelho Praça

Engenheira-agrônoma, doutora em Agronomia e Desenvolvimento Sustentável, técnica da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

Madelaine Venzon

Engenheira-agrônoma, doutora em Biologia, pesquisadora da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, Viçosa, MG

Marcelo Diniz Vitorino

Engenheiro florestal, doutor em Entomologia, professor da Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, SC

Marcus Vinicius Sampaio

Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, professor da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG

Marcos Rodrigues de Faria

Engenheiro-agrônomo, Ph.D. em Entomologia, pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

Maria Carolina Blasioli-Moraes

Química, doutora em Química Analítica, pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

Maria Cleria Valadares-Inglis

Bióloga, Ph.D. em Genética Microbiana, pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

Maria Elita Batista de Castro

Bióloga, doutora em Biologia Molecular, pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

Marla Juliane Hassemer

Bióloga, doutora em Zoologia, bolsista de pós-doutorado colaboradora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

Miguel Borges

Biólogo, Ph.D. em Ecologia Química, pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

Mirian Fernandes Furtado Michereff

Bióloga, doutora em Biologia Animal, bolsista de pós-doutorado da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

Odair Aparecido Fernandes

Engenheiro-agrônomo, Ph.D. em Entomologia, professor da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, SP

Paulo Roberto Martins Queiroz

Biólogo, doutor em Biologia Animal, pesquisador do Instituto Mato-Grossense do Algodão, Brasília, DF

Peter Ward Inglis

Biólogo, Ph.D. em Microbiologia Molecular, bolsista de pós-doutorado da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

Rafael Vivian

Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

Ranyse Barbosa Querino

Engenheira-agrônoma, doutora em Entomologia, pesquisadora da Embrapa, Secretaria de Inovação e Negócios, Brasília, DF

Raphael de Campos Castilho

Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia, professor da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, SP

Raúl Alberto Laumann

Biólogo, doutor em Ciências Biológicas, pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

Regina Maria Dechechi Gomes Carneiro

Engenheira-agrônoma, doutora em Parasitologia Vegetal, pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

Robert Weingart Barreto

Engenheiro-agrônomo, Ph.D. em Botânica, professor da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG

Rogério Biaggioni Lopes

Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia, pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

Rose Gomes Monnerat

Bióloga, doutora em Agronomia, pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

Saluana Rocha Craveiro

Bióloga, doutora em Biologia Molecular, bolsista de pós-doutorado da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

Sueli Corrêa Marques de Mello

Engenheira-agrônoma, doutora em Fitopatologia, pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF

Thalita Suelen Avelar Monteiro

Engenheira-agrônoma, doutora em Fitopatologia, pesquisadora colaboradora da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG

Agradecemos à Embrapa, empresa-mãe, que nos deu a oportunidade de formar este grupo excepcional de especialistas em controle biológico na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Somos especialmente gratas aos colegas autores e coautores dos capítulos, pelo apoio e confiança, e aos revisores que dedicaram voluntariamente seu precioso tempo na revisão dos capítulos. Estendemos ainda os agradecimentos a todas as outras pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a elaboração desta obra.

APRESENTAÇÃO

É com satisfação que apresentamos esta obra, que tem por objetivo levar aos leitores o embasamento técnico-científico que fundamenta o controle biológico de pragas da agricultura. Ela visa preencher a lacuna existente na literatura recente, especialmente em língua portuguesa, e tem como público-alvo prioritário estudantes universitários de graduação e pós-graduação.

Nos últimos anos, tem havido aumento progressivo do interesse pelo controle biológico. A relevância do problema das pragas, incluindo doenças de plantas e problemas com plantas infestantes em geral, bem como o aumento da invasão de novas pragas nas últimas décadas em particular constituem claramente as principais razões desse interesse. Para impedir a invasão de plantas, animais e microrganismos em áreas naturais ou intocadas, o controle biológico é frequentemente visto como a única opção viável, por essa razão houve também, no mundo, um aumento do controle biológico de espécies invasoras em áreas de conservação. Embora tenha havido esforços para desenvolver métodos químicos de controle de pragas que representem menor risco para os seres humanos e o meio ambiente, preve-se que os agrotóxicos permanecerão como principal estratégia de controle de pragas ainda por muito tempo. Portanto, a expectativa de reduzir o uso de agrotóxicos continua sendo um dos principais incentivos para o estudo e o desenvolvimento do controle biológico.

Este método amigável de controle de pragas está em fase de crescimento como disciplina científica. A presente obra pretende contribuir para esse crescimento, servindo como ferramenta de ensino e consulta para professores, alunos e outros estudiosos do controle biológico. Trata-se de um esforço de mais de 2 anos de um trabalho contínuo dos editores e autores especialistas em diferentes áreas, como ecologia, entomologia, microbiologia, fitopatologia e nematologia, o que torna esta obra única em escopo e importância.

A Parte 1 do livro apresenta os princípios, o histórico, as estratégias de uso e as relações ecológicas que caracterizam o controle biológico. Essa parte mostra como esse método de controle se desenvolveu ao longo de milênios, além de descrever o desenvolvimento mais recente, incluindo as bases teóricas das relações pragas-inimigos naturais que buscam compreender fenômenos que muitas vezes limitavam a eficiência do controle biológico pretendido. O Capítulo 1 relata casos excepcionais de sucesso do método no Brasil e no mundo.

A Parte 2 é dividida em sete capítulos, os quais estão relacionados aos diferentes agentes biológicos como parasitoides, predadores (inclusive ácaros predadores), bactérias, fungos, vírus e nematoides utilizados no controle de artrópodes-praga.

Os capítulos dessa parte abordam a biologia, o comportamento e os mecanismos de ação dos agentes de controle, as características ecológicas e as interações desses agentes com o hospedeiro e com o ambiente, as estratégias de controle mais apropriadas, bem como o histórico, os principais alvos e as vantagens e desvantagens para o controle de pragas. A taxonomia mais recente é apresentada em revisões atuais sobre o tema.

Por sua vez, a Parte 3 é dedicada ao controle biológico de doenças de plantas, plantas invasoras e nematoides fitoparasitas. Assim como os capítulos da Parte 2, os três capítulos dessa parte abordam as características específicas e os princípios que regem o controle biológico dessas pragas, o histórico e as estratégias de uso, além dos tipos e da classificação dos agentes de controle. Para os principais grupos taxonômicos dos agentes de controle estudados e utilizados atualmente, são descritos a biologia, a taxonomia, os mecanismos de ação e as interações ambiente-hospedeiro, bem como a relevância desses fatores para desenvolvimento e aplicação eficaz do controle biológico.

A Parte 4 é dedicada aos semioquímicos. Assim como o controle biológico, o uso de semioquímicos no monitoramento e controle de pragas é uma prática que contribui para a sustentabilidade agrícola e encontra-se entre os produtos fitossanitários com uso aprovado para a agricultura orgânica. Os semioquímicos podem ser usados em associação com outros métodos de controle, inclusive o controle biológico, atuando de forma sinérgica ou auxiliar. O capítulo traz detalhamentos sobre semioquímicos de bactérias, fungos, nematoides, insetos e plantas, além de apresentar a base teórica e prática do uso de feromônios e outros aleloquímicos que atuam nas mais diversas interações entre insetos e outros organismos.

O livro é finalizado com a apresentação, na Parte 5, dos aspectos regulatórios e das novas técnicas que estão sendo ativamente pesquisadas no intuito de melhorar ou facilitar a eficiência de agentes de controle biológico. Na conclusão, faz-se um retrato das perspectivas de mercado para o controle biológico em 2019.

Espera-se que este livro estimule estudantes e pesquisadores a desenvolver pesquisas nesta área, de modo a contribuir para o esforço mundial de utilização do controle biológico e alcançar uma agricultura cada vez mais sustentável.

Celso Luiz Moretti
Presidente da Embrapa

PREFÁCIO

Livros técnicos são essenciais como referência para a capacitação de alunos de graduação e pós-graduação, bem como para as demais pessoas interessadas em conhecimentos básicos. Este livro, porém, é ainda mais essencial por revelar conhecimentos oriundos de pesquisas realizadas nas condições brasileiras, com organismos que ocorrem em nossos ecossistemas. Quase sempre dispomos apenas de livros de autores estrangeiros, com dados e observações que não refletem as condições das regiões brasileiras. E é especialmente relevante quando tratamos das populações das pragas que afetam a agricultura e do modo como seus danos podem ser evitados.

Esta obra foi liderada por renomados pesquisadores da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, um dos melhores centros de estudo de controle biológico do Brasil. Ela nos atualiza sobre a biologia, o comportamento e a taxonomia dos agentes de controle biológico e apresenta uma discussão valiosa sobre as relações ecológicas que caracterizam a atuação dos agentes sobre as pragas. Trata-se de uma rica contribuição escrita em nosso idioma, pobre em literatura sobre o tema, que certamente irá estimular esforços que visam ao avanço da sustentabilidade da agricultura tropical. Em um cenário em que a produção de alimentos vem sendo fortemente criticada pela dependência do uso de agrotóxicos, em razão de seus efeitos negativos sobre organismos não alvos, como o próprio homem e o meio ambiente, as pesquisas abrem caminhos a serem perseguidos, a fim de que se possa encerrar o desafio de uma produção agrícola mais saudável e amigável para o meio ambiente, com reflexos até mesmo na ausência de resíduos críticos nas plantas e nos alimentos.

Certamente, a preocupação com a segurança alimentar e com alimentos mais seguros cada vez se incorpora a políticas públicas que, para serem efetivas, necessitam de pessoas mais capacitadas e de tecnologias inovadoras, como *big data*, *analytics*, inteligência artificial, manipulação genômica e práticas de controle biológico integrado ao uso de outras técnicas, como a dos semioquímicos, abordadas neste livro. A boa notícia é que os resultados das pesquisas no Brasil estão chegando mais prontamente à sociedade, graças ao protagonismo dos jovens talentos engajados no empreendedorismo tecnológico por meio dos startups. Com certeza, as agrotechs irão aproveitar a oportunidade de transformar o enorme volume de estudos sobre controle biológico desenvolvido no País em soluções para os problemas causados pelas pragas no campo. O Brasil, como grande produtor mundial de alimentos, tem o desafio de acelerar a transição para uma agricultura livre de agrotóxicos, em sintonia com o apelo das Nações Unidas pela sustentabilidade, fazendo cumprir os Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS), o que passa necessariamente pela capaci-

tação de profissionais e empreendedores, com vistas à renovação de nossa cultura, tornando a produção mais segura, inclusive para os produtores.

Dessa forma, assim como fomos capazes de inventar, a partir dos anos 1970, a bem-sucedida agricultura tropical, a qual tanto contribui para o desenvolvimento do País, saberemos agora reinventar a agricultura que nos manterá como grandes produtores de alimento, para um mundo sem fome, mas com produção responsável. Obras como esta são fundamentais para instruir na direção das transformações necessárias. E com as versões e-book, mais acessíveis aos jovens, amplia-se o acesso ao conhecimento atualizado. Por tudo isso, nós, adeptos do controle biológico como parte integrante do futuro, agradecemos a dedicação dos autores.

Evaldo Vilela

Professor e ex-reitor da Universidade Federal de Viçosa

Membro da Academia Brasileira de Ciências

Presidente da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais

SUMÁRIO

PARTE 1 – PRINCÍPIOS E FUNDAMENTOS

Capítulo 1 – Estratégias de uso e histórico	21
Estratégias de uso	23
Controle biológico por importação	23
Controle biológico conservativo	27
Controle biológico aumentativo	30
Breve histórico	32
Predadores e parasitoides	33
Patógenos de invertebrados	34
Artrópodes e patógenos de plantas invasoras	35
Controle biológico no Brasil	36
Referências	40
Capítulo 2 – Relações ecológicas no controle biológico	45
Conceitos básicos da teoria ecológica	47
Crescimento populacional geométrico	48
Competição e crescimento logístico	49
Controle e regulação populacional	51
Densidade da presa em relação a predadores e parasitoides	53
Conceitos básicos das interações patógeno-hospedeiro	55
Patogenicidade e virulência	56
Epizootiologia: enzootias e epizootias	57
Fatores envolvidos na ocorrência de infecções e incidência de doenças em insetos e plantas	59
Fatores bióticos que interferem na dinâmica da doença	59
Fatores abióticos que interferem na dinâmica da doença	60
Referências	62

PARTE 2 – CONTROLE DE ARTRÓPODES-PRAGA

Capítulo 3 – Controle de artrópodes-praga com parasitoides	65
Características biológicas e ecológicas	67
Classificação taxonômica e diversidade	70

Comportamento na busca de hospedeiros	82
Comportamento de oviposição	86
Reconhecimento e aceitação do hospedeiro	86
Mecanismos de oviposição	87
Oviposição no ambiente	89
Distribuição de sexos e razão sexual da progênie	91
Interações hospedeiro-parasitoide: regulação fisiológica do hospedeiro	93
Programas de controle biológico	95
Vantagens e limitações	97
Espectro de hospedeiros	99
Características bioecológicas	100
Adaptação climática	103
Habilidade competitiva	105
Referências	106

Capítulo 4 – Controle de artrópodes-praga com insetos predadores 113

Princípios básicos da predação	114
Localização do habitat da presa	115
Localização das presas	117
Aceitação da presa	117
Adequação da presa	118
Características biológicas e ecológicas	119
Classificação taxonômica e nomenclatura	121
Classe Insecta	121
Ordem Coleoptera	121
Ordem Dermaptera	123
Ordem Diptera	123
Ordem Hemiptera	124
Ordem Hymenoptera	127
Ordem Neuroptera	127
Ordem Thysanoptera	128
Classe Arachnidae	128
Ordem Araneae	128
Ordem Acari	129
Programas de controle biológico	131
Estratégias para utilização de predadores	133
Desafios e perspectivas	136
Referência	137

Capítulo 5 – Controle de artrópodes-praga com ácaros predadores	141
Classificação taxonômica e principais famílias	143
Importância da identificação acurada dos ácaros predadores	146
Características biológicas e ecológicas	148
Ácaros predadores da ordem Mesostigmata	148
Família Phytoseiidae	148
Outras famílias de predadores Mesostigmata	150
Ácaros predadores da ordem Trombidiformes, subordem Prostigmata	151
Mecanismo de alimentação, hábitos alimentares e estilos de vida	151
Programas de controle biológico	155
Ácaros predadores plantícolas da família Phytoseiidae	155
Predadores edáficos Mesostigmata	157
Desafios e perspectivas	160
Referências	161
 Capítulo 6 – Controle de artrópodes-praga com bactérias entomopatogênicas	 167
Diversidade de bactérias entomopatogênicas	168
<i>Paenibacillus popilliae</i> e <i>P. lentimorbus</i>	168
<i>Lysinibacillus sphaericus</i>	169
<i>Brevibacillus laterosporus</i>	170
<i>Serratia entomophila</i> e <i>Serratia proteamaculans</i>	172
<i>Pseudomonas entomophila</i>	173
<i>Clostridium bifermentans</i>	174
<i>Chromobacterium subtsugae</i>	175
<i>Photobacterium luminescens</i> e <i>Xenorhabdus nematophila</i>	176
<i>Bacillus thuringiensis</i>	177
Toxinas produzidas por <i>Bacillus</i>	179
δ -endotoxinas	179
Proteínas Vip e Sip	184
Proteínas binárias Vip1 e Vip2	184
Proteínas Vip3	185
Proteína Vip4	186
Proteína Sip	186
Complexos de toxina	187
Agrupamento de toxinas de bactérias entomopatogênicas	188
Resistência de insetos a bioinseticidas Bt	193
Referências	193

Capítulo 7 – Controle de artrópodes-praga com fungos entomopatogênicos	201
Características biológicas e ecológicas	201
Características ecológicas e interações com artrópodes	202
Características ecológicas e interações com o ambiente	203
Segurança para a saúde humana e animal	205
Mecanismos de ação	207
Adesão e penetração	207
Colonização de artrópodes e metabólitos tóxicos	210
Mecanismos de defesa de insetos e ácaros	212
Classificação taxonômica e nomenclatura	214
Grupos de fungos associados a insetos e ácaros	215
Subfilo Kickxellomycotina	216
Subfilo Mucoromycotina	217
Filo Blastocladiomycota	217
Filo Microsporidia	217
Filo Entomophthoromycota	224
Filo Basidiomycota	224
Filo Ascomycota	224
Nomenclatura de fungos com ciclo de vida pleomórfico	226
Principais espécies usadas no controle biológico aplicado	227
Programas de controle biológico	228
Desafios e perspectivas	230
Referências	231
Capítulo 8 – Controle de artrópodes-praga com vírus entomopatogênicos	237
Características biológicas e ecológicas	238
Taxonomia, diversidade e evolução	242
Diversidade e evolução da família <i>Baculoviridae</i>	245
Importância da variabilidade genética e sua conservação	247
Modo de ação e ciclo biológico dos baculovírus	248
Patogênese e interação vírus-hospedeiro	250
Entrada dos vírus	251
Infecção sistêmica	252
Genes auxiliares da replicação e dispersão viral	255
Uso dos baculovírus e sua importância	257
Segurança do uso de produtos biológicos à base de baculovírus	258
Produção	259
Principais programas de controle biológico de pragas com baculovírus no Brasil	259

Lagarta-da-soja – <i>Anticarsia gemmatalis nucleopolyhedrovirus</i> (AgMNPV)	260
Lagarta-do-cartucho-do-milho – <i>Spodoptera frugiperda nucleopolyhedrovirus</i> (SfMNPV)	260
Lagarta-mandarová-da-mandioca – <i>Erinyis ello granulovirus</i> (ErelGV)	261
Lagarta-do-álamo – <i>Condylorrhiza vestigialis nucleopolyhedrovirus</i> (CoveNPV)	261
Lagarta-falsa-medideira – <i>Chrysodeixis includens nucleopolyhedrovirus</i> (ChinNPV)	262
Lagarta-do-algodão – <i>Helicoverpa armigera nucleopolyhedrovirus</i> (HearNPV)	262
Desafios e perspectivas	262
Referências	264

Capítulo 9 – Controle de artrópodes-praga com nematoides entomopatogênicos 275

Taxonomia e identificação	276
Família Steinernematidae	277
Família Heterorhabditidae	277
Biologia e ecologia	278
Ciclo de vida na família Steinernematidae	278
Ciclo de vida na família Heterorhabditidae	279
Fatores bióticos e abióticos	279
Sintomatologia e sinais de infecção	281
Mobilidade	282
Uso de nematoides entomopatogênicos	283
Programas de controle biológico	285
Desafios e perspectivas	285
Referências	286

PARTE 3 – CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS, PLANTAS INVASORAS E FITONEMATOIDES

Capítulo 10 – Controle de doenças de plantas 291

Conceito de controle biológico aplicado a doenças de plantas	292
Abordagens usadas	293
Estratégias de utilização de microrganismos como agentes de controle biológico	294
Mecanismos e modo de ação	295
Competição	296
Micoparasitismo	297
Antibiose	298
Indução de resistência de plantas	302
Promoção do crescimento das plantas	304

Processos ecológicos do controle de doenças de plantas	308
Interações microbianas na espermosfera	308
Interações microbianas na rizosfera	309
Interações microbianas em solos supressivos	310
Supressividade a <i>Fusarium</i>	311
Supressividade a <i>Gaeunmanomyces graminis</i> var. <i>tritici</i>	312
Interações microbianas na filosfera	313
Interações microbianas nas hastes e nos caules lenhosos	315
Interações microbianas em inflorescências e frutos e controle biológico	315
Tipos de formulações e estratégias de uso	317
Desafios e perspectivas	318
Referências	319

Capítulo 11 – Controle de plantas invasoras 327

Breve histórico	328
Principais estratégias de controle biológico de plantas invasoras	330
Controle biológico clássico	331
Controle biológico inundativo	339
Controle biológico pela estratégia aumentativa	340
Manejo do agroecossistema para o controle biológico conservativo	341
Predisposição das plantas invasoras ao biocontrole	342
Fatores do ambiente e do hospedeiro sobre os agentes de biocontrole	342
Interações ecológicas do controle biológico de plantas invasoras	345
Insetos herbívoros	345
Fitopatógenos de parte aérea e de solo	346
Microrganismos não patogênicos da rizosfera	347
Programas de controle biológico	350
Comercialização de bio-herbicidas	350
Controle biológico clássico com insetos	353
Controle biológico clássico envolvendo microrganismos	354
Determinação do sucesso dos agentes de controle biológico	355
Desafios e perspectivas	357
Referências	359

Capítulo 12 – Controle de nematoides fitoparasitas 371

Características básicas dos nematoides-das-galhas	372
Importância econômica e identificação das espécies	372
Ciclo de vida e relação parasita-hospedeiro	373

Bactérias no controle de nematoides	374
Bactérias não diretamente parasitas de nematoides	374
Bactérias do gênero <i>Pasteuria</i> no biocontrole de nematoides	378
Ciclo de vida	380
Produção massal in vivo e métodos de cultivo in vitro	381
Fatores que afetam a relação <i>Pasteuria penetrans</i> -nematoides	382
Fungos no controle de nematoides	385
Fungos endoparasíticos	386
Fungos predadores	386
Fungos produtores de toxinas	388
Fungos saprófitas	389
Fungos endofíticos	391
Fungos parasitas de ovos e fêmeas de nematoides	393
Produtos biológicos para o controle de fitonematoides	395
Referências	399

PARTE 4 – CONTROLE DE PRAGAS COM USO DE SEMIOQUÍMICOS

Capítulo 13 – Semioquímicos no controle de pragas	415
Características biológicas e interações ecológicas	417
Semioquímicos de bactérias	417
Semioquímicos de fungos	419
Semioquímicos de nematódeos	420
Semioquímicos de insetos	421
Feromônios	421
Aleloquímicos	425
Estrutura química dos semioquímicos de insetos	426
Semioquímicos de plantas	433
Custo energético da produção	437
Mecanismos e modo de ação	438
Programas de uso de semioquímicos	440
Desafios e perspectivas	442
Referências	444

PARTE 5 – ASPECTOS LEGAIS, PERSPECTIVAS E MERCADO

Capítulo 14 – Regulamentação da pesquisa e do registro de produtos de controle biológico	453
Regulação de agrotóxicos e avanços no registro de produtos biológicos	454
Etapas para a regulação dos produtos biológicos	458
Coleta de material biológico	459
Acesso ao patrimônio genético	460
Identificação e caracterização de agentes biológicos	465
Testes para embasar o registro de produtos comerciais	467
Vantagens dos produtos de origem biológica	469
Políticas públicas para uso de produtos biológicos	471
Desafios e perspectivas	473
Referências	479
Capítulo 15 – Novas tecnologias aplicáveis ao controle biológico	483
Uso de ferramentas moleculares	484
Edição de genomas de agentes de biocontrole	486
Silenciamento de genes	487
Engenharia genética	488
Insetos transgênicos	489
Microrganismos transgênicos	489
Avanços na produção massal de agentes de controle biológico	491
Nanotecnologia aplicada aos biopesticidas	493
Uso de drones para aplicação de agentes de controle biológico	494
Desafios e perspectivas	495
Referências	496
Capítulo 16 – Mercado de agentes de controle biológico	501
Características do mercado de insumos tecnológicos	502
Mercado de agentes de controle biológico no Brasil	504
Desafios e perspectivas	506
Referências	509

PARTE 1

PRINCÍPIOS E FUNDAMENTOS

CAPÍTULO 1

Estratégias de uso e histórico

Eliana Maria Gouveia Fontes
Carmen Silvia Soares Pires
Edison Ryoiti Sujii

O número de indivíduos de uma população é controlado tanto por processos ecológicos abióticos, como chuvas e temperaturas extremas, quanto bióticos, como abundância de alimentos ou presença de inimigos naturais. Além disso, a perturbação causada por atividade antrópica também pode influenciar essa população. Por exemplo, os ambientes agrícolas sofrem forte interferência humana na busca por favorecer a abundância de uma ou de poucas espécies cultivadas. Isso resulta em uma concentração de recursos homogêneos que pode afetar as populações dos diferentes organismos ali presentes trazendo possíveis consequências indesejáveis, como, por exemplo, o surto populacional de pragas. Uma forma de buscar simular o equilíbrio populacional dinâmico que ocorre nos ambientes de vegetação natural é promover o controle biológico, que é um serviço ecossistêmico resultante da ação dos inimigos naturais.

Inimigos naturais, sejam eles patógenos, predadores, parasitas, herbívoros ou antagonistas, atuam sobre as populações de suas presas ou hospedeiros, prestando o serviço ecossistêmico de controle biológico. Em ambientes agrícolas, quando populações de plantas, animais ou fitopatógenos aumentam em níveis economicamente inaceitáveis e atingem o status de praga, seus inimigos naturais podem ser manejados ou inseridos no sistema para suprimi-las, permitindo, assim, de forma alternativa ao uso dos agrotóxicos de amplo espectro, a produção de alimentos de forma mais sustentável, bem como a conservação dos habitat naturais.

No século passado, houve considerável esforço de pesquisa para o entendimento de como os inimigos naturais poderiam ser manipulados para o uso efetivo e seguro no manejo integrado de pragas. Embora as pesquisas tenham se intensificado em tempos mais recentes, a ação de predadores e parasitoides no controle

de insetos-pragas é conhecida e usada há milhares de anos. Apesar dessa longa história, apenas em 1919 o termo “controle biológico” foi proposto por Harry Smith, da Universidade da Califórnia, que o definiu como “a supressão de populações de insetos pela ação de seus inimigos naturais nativos ou introduzidos” (Smith, 1919). Posteriormente, à medida que avanços tecnológicos resultavam em ferramentas disponíveis para o manejo de pragas, a definição do termo foi discutida e debatida por diferentes autores ao longo dos anos. Por exemplo, DeBach e Rosen (1991) definiram o termo como qualquer redução de populações de plantas ou animais por inimigos naturais que ocorra em áreas naturais ou manejadas. Mais recentemente, Heimpel e Mills (2017) optaram por uma definição de controle biológico que reconhece as relações ecológicas subjacentes que caracterizam o controle biológico e incluem interações diretas e indiretas entre populações de organismos-alvo, agentes de controle biológico, seres humanos e seus recursos.

Neste livro, o controle biológico será abordado no contexto de redução de populações de organismos indesejáveis que ocorrem nos agroecossistemas nos quais inimigos naturais, como predadores, parasitoides, parasitas, herbívoros, competidores e patógenos, mantenham sob controle qualquer população com potencial nocivo à atividade humana, como as pragas da agricultura. Esse grupo de organismos nocivos inclui artrópodes (insetos e ácaros), nematoides e microrganismos patogênicos às plantas cultivadas e plantas daninhas. Complementarmente, este livro inclui um capítulo sobre semioquímicos, em razão da importância da comunicação química entre organismos na mediação dos diferentes tipos de interações tróficas que compõem o controle biológico.

Sendo assim, esta obra não se atém a definições de controle biológico, mas sim ao alcance do termo de acordo com as abordagens apresentadas neste livro, que descreve a biologia, a ecologia e o modo de ação de predadores, parasitoides,

parasitas, herbívoros, competidores e patógenos que atuam no controle de populações de pragas da agricultura, bem como a comunicação química entre insetos e entre insetos e plantas como ferramenta auxiliar no manejo de pragas. Em outras palavras, este livro trata da ação de inimigos naturais na regulação do número de plantas, animais e microrganismos vivos e também do entendimento e do uso de semioquímicos como potencializadores dessa ação.

Agroecossistemas

Conjunto de paisagens formadas pelas áreas de cultivo e vegetação natural do seu entorno.

Semioquímicos

Substâncias químicas produzidas por organismos que modificam o comportamento de outros seres vivos.

Interações tróficas

Interações existentes na cadeia alimentar que envolvem transferência de energia e nutrientes entre organismos.

ESTRATÉGIAS DE USO

O controle biológico é caracterizado por relações ecológicas que envolvem a competição do homem com as pragas por recursos naturais (ex.: plantas cultivadas e produção agrícola) e a presença do agente de controle biológico como aliado do homem e inimigo natural da praga. Nesse contexto, os recursos naturais – vegetal ou animal, natural ou manejado – são externalidades que beneficiam diretamente o bem-estar humano.

O controle biológico ocorre naturalmente em qualquer ecossistema sem a necessidade da ação humana. Por sua vez, o homem pode interferir, manipular e facilitar a ação do agente de controle biológico. DeBach e Rosen (1991) e Van Driesche e Bellows (1996) descrevem três formas de manipulação do controle biológico: importação, aumento e conservação de inimigos naturais. Essas estratégias podem ser usadas isoladamente ou combinadas. Eilenberg et al. (2001) sugeriram o uso dos termos “inundação” e “inoculação” para substituir “aumento”, visto que este último não descreve claramente a natureza dos processos envolvidos. Os termos “controle biológico inundativo” e “controle biológico inoculativo” são usados para diferenciar táticas de liberação de inimigos naturais usando o método aumentativo, nas quais nenhuma reprodução é esperada no método inundativo, enquanto poucas gerações oriundas de reprodução do inimigo natural em campo são esperadas no inoculativo (Heimpel; Mills, 2017). Todas essas formas de controle biológico serão discutidas ao longo deste livro. Aqui será apresentada uma breve introdução.

Controle biológico por importação

Quando uma espécie exótica é introduzida em uma nova região, ela poderá se estabelecer e invadir a nova área, e sua população irá crescer até ocupar todos os recursos disponíveis por causa da ausência de fatores de resistência do ambiente (ex.: inimigos naturais) que limitem sua abundância. Em muitas situações, essas espécies se tornam pragas, causando danos à agricultura, ao meio ambiente e à saúde humana. A importação de inimigos naturais, preferencialmente da região de origem da espécie invasora, pode ser uma boa alternativa para seu controle. Também conhecido como Controle Biológico Clássico, esse método consiste em buscar inimigos naturais de uma praga exótica (espécie invasora) em outras áreas geográficas distintas para introdução, liberação e estabelecimento na área onde a praga exótica foi introduzida, visando ao seu controle.

Grande proporção das pragas agrícolas mais sérias são exóticas ou introduzidas. Inimigos naturais dessas pragas invasoras possivelmente estarão ausentes na região invadida, e os inimigos naturais já presentes muito provavelmente terão baixo desempenho na supressão de populações da praga, sendo de pouca efetividade no seu combate, pelo menos nos anos iniciais da invasão. Nesses casos, a introdução de novas espécies de inimigos naturais que sejam efetivos contra a praga pode ser uma boa alternativa, constituindo uma abordagem que historicamente tem sido muito usada com diferentes níveis de sucesso. O padrão desse método começa com a prospecção de inimigos naturais na região de origem da praga. O inimigo natural candidato é mais frequentemente identificado por meio da procura nas populações da praga na sua região geográfica nativa, observando quais espécies de inimigos naturais a atacam localmente.

Existe uma discussão a respeito dos aspectos coevolutivos envolvidos na prospecção e na seleção de inimigos naturais para controle biológico de pragas exóticas em suas regiões de origem. A seleção de espécies especialistas tem sido preferida por causa dos menores riscos de impacto sobre espécies não alvo e pela provável sincronização das fenologias e maior impacto na dinâmica populacional. Segundo a hipótese da rainha vermelha (Stenseth; Smith, 1984), para duas espécies que coevoluem continuamente, as adaptações de defesa e ataque selecionadas mantêm a interação indefinidamente, havendo eventualmente a extinção e a substituição de uma das espécies. Assim, aplicando essa hipótese, pode-se inferir que a estratégia de seleção de espécies especialistas com histórias de vida que apresentem associações antigas seja adequada para o controle biológico de pragas introduzidas. No entanto, outros autores sugerem que associações mais recentes (Hokkanen; Pimentel, 1984) ou inimigos naturais raros possam ser mais eficientes seguindo os argumentos da hipótese da tolerância biológica (Myers; Bazely, 2003). De acordo com essa hipótese, a tolerância ou resistência das presas ao inimigo natural seria menor, em razão da reduzida história de vida comum, havendo, portanto, maior impacto na dinâmica populacional das pragas nos novos ambientes.

Uma vez identificados, os inimigos naturais exóticos são coletados, selecionados e enviados para o país que a praga invadiu, e são liberados no ambiente somente depois de serem sujeitos a procedimentos de quarentena e avaliação de riscos à biodiversidade em laboratórios apropriados e credenciados pelo governo. O Controle Biológico Clássico, ao contrário dos outros métodos (Controle Biológico Conservativo e Controle Biológico Aumentativo) não é realizado diretamente pelo agricultor. Os órgãos internacionais, federais, estaduais, as universidades e outras instituições de pesquisa são responsáveis por identificar potenciais pragas-alvo, localizando suas distribuições naturais, buscando nessas regiões os inimigos naturais com potencial de uso, bem como

a introdução desses inimigos naturais nas áreas necessárias. Na verdade, existem leis de quarentena específicas que proíbem indivíduos ou instituições de introduzir organismos exóticos (incluindo inimigos naturais) sem a devida autorização do governo federal – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa), Ministério do Meio Ambiente (MMA) e Instituto Brasileiro do Meio Ambiente (Ibama). Os procedimentos e as legislações aplicáveis estão descritos no Capítulo 14. O Laboratório de Quarentena Costa Lima, da Embrapa Meio Ambiente em Jaguariúna, SP, é credenciado pelo Mapa e possui especialistas que se dedicam à introdução e quarentena dos inimigos naturais importados (Sá, 2015), os quais devem ser cuidadosamente selecionados por pessoal treinado em condições de quarentena rígidas. Dessa forma, tem-se a certeza de que (1) eles vão fornecer o benefício no controle da praga-alvo, (2) de que não se tornarão pragas nos locais de introdução e (3) de que não introduzirão os seus próprios inimigos naturais (ex.: hiperparasitoides e patógenos) nas áreas de liberação, fatos que poderão interferir com a sua eficácia.

O cuidado no processo de importação e a análise de risco da introdução de agentes de controle biológico exóticos são somente a parte inicial da estratégia de controle biológico clássico. A identificação taxonômica assertiva da espécie introduzida, sua propagação ou criação para liberação no ambiente, assim como o monitoramento do estabelecimento na área introduzida e a avaliação da efetividade do controle da praga são etapas essenciais e demandam estudos específicos de biologia, comportamento e ecologia da espécie introduzida. Por exemplo, um aspecto importante é a estratégia de liberação. O sucesso do estabelecimento de uma espécie pode estar relacionado ao tamanho inicial da população introduzida. A variabilidade genética das populações de inimigos naturais introduzidos e liberados pode ser outro fator importante para o sucesso do controle biológico clássico, uma vez que o estabelecimento da população inicial pode estar condicionado a determinadas características, como resistência a fatores ambientais ou interações ecológicas entre predador ou parasita/presa específicas do local de liberação. A liberação de uma única espécie ou de várias espécies também deve ser considerada sob o aspecto de competição e predação intraguilda, isto é, as interações possíveis entre diferentes inimigos naturais que exploram o mesmo recurso alimentar. Após a liberação no campo, há necessidade de

Hiperparasitoides

Parasitoides que se desenvolvem em outro parasitoide ou em parasitoides secundários.

Guilda

Conjunto de organismos (espécies) que usam um determinado recurso da mesma maneira (ex.: guilda alimentar de folívoros mastigadores – conjunto de espécies que se alimentam de folhas, como lagartas, besouros, gafanhotos, etc.).

Predação intraguilda

Predação de eventuais competidores; combinação entre a predação e a competição, porque ambas as espécies pertencem à mesma guilda, utilizam o mesmo tipo de recursos alimentares e podem se beneficiar de predar um ao outro.

monitoramento da população, havendo casos em que liberações múltiplas poderão ser necessárias até que a população introduzida se adapte e seja capaz de se estabelecer nas áreas desejadas. Existem casos em que mais de uma espécie, ou mesmo várias espécies precisam ser introduzidas e avaliadas até que o resultado desejado seja alcançado.

A importação como método de controle biológico proveu controle total ou parcial de grande número de pragas em todo o mundo. Mais de 2.700 inimigos naturais foram introduzidos em 196 países e ilhas (Heimpel; Mills, 2017) para o controle de artrópodes-pragas ao longo de mais de 130 anos e raramente resultaram em efeitos ambientais negativos (Van Lenteren et al., 2006). Um exemplo foi o programa de controle biológico de pulgões-do-trigo no Sul do Brasil, realizado nas décadas de 1970 e 1980, em que diversas espécies de inimigos naturais foram introduzidas, mas apenas algumas efetivamente se estabeleceram e tiveram sucesso no controle dos pulgões-alvo, eximindo o agricultor do uso extensivo de controle químico.

Este método tem uma vantagem em relação aos outros métodos porque é autossustentável e, portanto, menos caro em longo prazo. A globalização e a intensa movimentação de pessoas e mercadorias entre regiões e países têm potencializado os riscos de introdução de espécies exóticas indesejáveis, as quais, muitas vezes, tornam-se pragas muito sérias nos novos ambientes. Hoje as espécies exóticas são consideradas a segunda maior causa de perda de diversidade biológica no mundo, suplantada apenas pela transformação de biomas para construção e expansão de cidades, rodovias, hidrelétricas, mineração, agricultura, etc. Por isso, os possíveis efeitos indesejáveis que podem resultar da liberação de organismos exóticos têm causado preocupação. Alguns problemas ocorreram no passado, sendo o mais óbvio a introdução de alguns inimigos naturais exóticos em novas áreas onde eles se tornaram um problema ecológico, principalmente porque não eram inimigos naturais específicos da praga-alvo, podendo também interferir na população de espécies benéficas. Por isso, este método de controle biológico passou por uma mudança de paradigma: o foco das atenções deixou de se concentrar apenas nos benefícios do agente de controle introduzido, e os riscos relacionados ao impacto sobre a biodiversidade do local das introduções tornaram-se aspecto central no processo de decisão.

A pesquisa sobre o controle biológico fez progressos notáveis nos últimos 50 anos, passando de um método baseado em tentativa e erro para uma abordagem mais preditiva, baseada em teorias ecológicas de interações inimigo natural-presas e dinâmica populacional. Uma atividade tão rigorosa baseada em pesquisa deve ajudar a evitar erros como os cometidos no passado. Uma nova era está se iniciando, em que os benefícios e os riscos são bem compreendidos, de modo que as soluções que maximizam os benefícios e minimizam os riscos possam ser perseguidas e implementadas.

Muitos países, incluindo o Brasil, implementaram regulamentos para a liberação de agentes de controle biológico, com o intuito de evitar ou minimizar potenciais riscos e maximizar os benefícios. Uma revisão geral sobre os riscos potenciais da introdução de espécies exóticas foi feita por Van Lenteren et al. (2006) e Paula et al. (2015). Atualmente, no Brasil, a liberação no ambiente de espécies exóticas é regulada pela Instrução Normativa Ibama nº 5/2016 (Ibama, 2016).

Controle biológico conservativo

O Controle Biológico Conservativo (CBC) baseia-se no entendimento de que os agroecossistemas podem ser manejados com objetivo de preservar e aumentar as populações de inimigos naturais (parasitoides, predadores e patógenos) e assim promover o controle das populações de pragas. Para que os inimigos naturais sejam atraídos e se mantenham em um agroecossistema, é necessário fornecer presas ou alimentos alternativos, como fontes de carboidratos, como néctar e melato (*honeydew*), e de proteínas, como pólen, para parasitoides e predadores. Diversas espécies de predadores e parasitoides têm a longevidade, a sobrevivência e a fecundidade favorecidas por uma dieta diversa à base de plantas, complementar às presas (Wyckhuys et al., 2013). Além do fornecimento de recursos complementares, é necessário também criar e manter locais de refúgio que, além de moderar as condições físicas do ambiente criando microclimas favoráveis, protejam os parasitoides e predadores de seus próprios inimigos naturais.

O CBC é fundamentado na teoria ecológica e tem como base as disciplinas de ecologia e biologia da conservação. A associação dessas duas disciplinas para o desenvolvimento dessa abordagem é aprofundada no livro de Barbosa (1998). Os organismos vivos estabelecem redes complexas de interações mutualísticas e antagônicas na natureza, que impactam fortemente sua própria sobrevivência e a estabilidade de toda a população. Os fungos, em particular, podem moldar ecossistemas naturais e manejados pelo homem, por causa da sua ocorrência onipresente e da variedade de interações que estabelecem com plantas, animais e outros microrganismos. Dessa forma, a implementação do CBC requer conhecimento a respeito da ecologia e da biologia dos inimigos naturais e das comunidades das quais eles fazem parte, inclusive o ambiente físico. Na microbiota natural, certos microrganismos são capazes de suprimir o crescimento de outros microrganismos por meio da competição por nutrientes e/ou da produção de substâncias inibitórias.

Melato (*honeydew*)

Substância açucarada, excretada pelos afídeos e coccídeos e depositada sobre a superfície das plantas. O *honeydew* é composto basicamente por água e carboidratos solúveis (incluindo glucose, sucrose, frutose e outros), amoníacos, amidos, ácidos orgânicos, álcool, auxinas e sais (Auclair, 1963; Way, 1963).

É importante o conhecimento acerca da estrutura e do funcionamento das teias tróficas presentes no agroecossistema, a fim de selecionar técnicas de manejo do ambiente que favoreçam a conservação e o incremento das populações daquelas espécies desejáveis. Também é importante o conhecimento sobre as exigências nutricionais e ambientais dos inimigos naturais para a escolha correta dos recursos a serem manejados (espécies de plantas e hospedeiros/presas alternativas).

O manejo dos agroecossistemas para o fornecimento destes recursos adicionais pode ser feito por meio de práticas agronômicas de diversificação vegetal das propriedades, como cultivo de plantas para adubação e cobertura do solo, barreiras e corredores de vegetação em torno das áreas cultivadas e culturas consorciadas nos talhões de cultivo. Áreas de produção de arroz na China, no Vietnã e na Tailândia, onde foram cultivadas plantas no entorno para o fornecimento de néctar, tais como *Crotalaria* spp. (Fabaceae), *Glycine max* (Fabaceae), *Bidens pilosa* (Asteraceae), *Lantana camara* (Verbenaceae), *Sesamum indicum* (Pedaliaceae), *Abelmoschus esculentus* (Malvaceae), entre outras, tiveram maior abundância de predadores e parasitoides além de redução da população de duas pragas-chaves, com 70% de redução no uso de inseticidas e incremento de produção de 5% (Gurr et al., 2016).

Outras práticas agronômicas, como, por exemplo, rotação de culturas com leguminosas usadas para adubação verde do solo, tais como guandu (*Cajanus cajan*) e crotalária (*Crotalaria juncea*), podem também contribuir para atrair e manter inimigos naturais nas áreas cultivadas. Em área de cultivo de milho, o uso de crotalária como adubo verde favoreceu a presença dos predadores *Doru luteipes* (Scudder) (Derm.: Forficulidae), *Nephila clavipes* L. (Aran.: Nephilidae), *Orius insidiosus* (Say) (Het.: Anthocoridae), *Pheidole* sp., *Solenopsis* sp. (Hym.: Formicidae) (Tavares et al., 2011). Além disso, em experimentos de laboratório, observou-se que o pólen de crotalária e guandu associado a uma fonte de carboidrato aumentou a taxa de reprodução e longevidade do predador *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) (Venzon et al., 2006). Na Tabela 1, são citados outros exemplos de plantas que podem ser usadas para o fornecimento de recursos para os inimigos naturais além de práticas agrícolas onde essas plantas podem ser aplicadas.

As práticas agrícolas de diversificação vegetal devem ser orientadas para a seleção de espécies de plantas que agreguem inimigos naturais de interesse, a fim de que as comunidades resultantes apresentem maior equidade nas abundâncias relativas e maior estabilidade (Jonsson et al., 2008). Essas plantas devem ser integradas espacialmente e temporalmente nos agroecossistemas, a fim de que favoreçam os inimigos naturais e, ao mesmo tempo, sejam funcionais ou de fácil implantação, para que os produtores se interessem em usá-las. Além de observar as necessidades dos inimigos naturais, a escolha das plantas a serem cultivadas em consórcio e o seu arranjo espacial e temporal devem ser realizados no intuito de obter baixa competição entre as plantas

Tabela 1. Exemplos de plantas fornecedoras de recursos⁽¹⁾ para inimigos naturais⁽²⁾, avaliadas experimentalmente, que podem ser usadas em diferentes práticas agrícolas⁽³⁾ para a diversificação vegetal de agroecossistemas no Brasil.

Família	Gênero/espécie	Nome comum
Amaranthaceae	<i>Amaranthus</i> spp.	Caruru-rasteiro
	<i>Baccharis</i> sp.	Carqueja
Apiaceae	<i>Anethum graveolens</i>	Endro
	<i>Coriandrum sativum</i>	Coentro
	<i>Foeniculum vulgare</i>	Erva-doce
	<i>Ageratum conyzoides</i>	Mentrassto, erva-de-são-joão
Asteraceae	<i>Alternanthera ficoidea</i>	Apaga-fogo
	<i>Bidens pilosa</i>	Picão, carrapicho-de-agulha
	<i>Blainvillea</i> sp.	Erva-palha, picão-grande
	<i>Buddleja stachyoides</i>	Verbasco, barbasco
	<i>Melampodium divaricatum</i>	Estrelinha, botão-de-ouro
	<i>Sonchus oleraceus</i>	Chicória-brava, serralha-branca, serralha-lisa
	<i>Parthenium hysterophorus</i>	Losna-branca
Euphorbiaceae	<i>Euphorbia heterophylla</i>	Leiteiro, amendoim-bravo
	<i>Senna obtusifolia</i>	Fedegoso, mata-pasto
Fabaceae	<i>Cajanus cajan</i>	Feijão-guandu
	<i>Crotalaria juncea</i>	Crotalária
Lamiaceae	<i>Leonurus sibiricus</i>	Erva-macaé, cordão-de-são-francisco
Poaceae	<i>Chloris</i> sp.	Capim-branco
	<i>Digitaria</i> sp.	Capim-colchão

⁽¹⁾ Recursos fornecidos – pólen; néctar; presas para joaninhas afidófagas (pulgões); local para oviposição; local para refúgio; e substrato para construção de teias.

⁽²⁾ Inimigos naturais associados às plantas – *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae); *Coleomegilla maculata* DeGeer (Coleoptera: Coccinellidae); *Cycloneda sanguinea* (L.) (Coleoptera: Coccinellidae); *Doru luteipes* (Dermaptera: Forficulidae); *Eriopsis connexa* (Germar) (Coleoptera: Coccinellidae); *Hippodamia convergens* Guérin-Meneville (Coleoptera: Coccinellidae); *Nephila clavipes* (Araneae: Nephilidae); *Orius insidiosus* (Heteroptera: Anthracoridae); *Co. quadrifasciata* (Schönherr) (Coleoptera: Coccinellidae); *Pheidole* sp.; *Solenopsis* sp. (Hymenoptera: Formicidae); Syrphidae; e famílias de aranhas (Miturgidae, Araneidae, Oxyopidae, Thomisidae, Theridiidae, Corinnidae, Tetragnathidae, Mimetidae, Pisauridae, Scytodidae).

⁽³⁾ Práticas agrícolas avaliadas – Consórcio tomate-coentro; consórcio couve-coentro; crotalária (adubos verdes e cobertura de solo em cafezal); e manutenção de plantas de crescimento espontâneo nas bordas e entrelinhas das áreas de cultivo de pimenta favoreceu aranhas e artrópodes afidófagos.

Fonte: Adaptado de Guimaraes et al. (2001), Santos et al. (2001), Silveira et al. (2003), Venzon et al. (2006), Fiedler et al. (2008), Resende et al. (2008), Togni et al. (2009), Lixa et al. (2010), Medeiros et al. (2010), Tavares et al. (2011) e Amaral et al. (2013, 2016).

e de selecionar as espécies/variedades mais adequadas para as diferentes condições edafoclimáticas. Assim, essas escolhas devem levar em consideração as exigências de luz, água e nutriente de cada espécie de planta, bem como outras características agronômicas, como o ciclo de vida e o porte de cada planta.

Na escolha das espécies a serem cultivadas em consórcio, além dos aspectos agronômicos, é importante considerar as interações bióticas das plantas com microrganismos (ex.: fixadores de nitrogênio, estimuladores de crescimento, patogênicos e seus antagonistas) ou animais (ex.: polinizadores, pragas e seus agentes biológicos de controle, detritívoros), assim como interações químicas entre plantas (ex.: alelopatia). Existem espécies de plantas que, quando plantadas em combinação, comportam-se

como “companheiras” e, assim, favorecem o crescimento mútuo e maximizam o potencial produtivo das áreas plantadas. Também é importante observar o conjunto de pragas que cada espécie hospeda, a fim de evitar o uso de plantas nos consórcios que hospedem o mesmo grupo de espécies de pragas e doenças.

Alelopatia

Efeito causado por substâncias químicas ou metabólitos secundários que influenciam o desenvolvimento de outros indivíduos, atuando de forma direta ou indireta, sendo benéfico ou prejudicial. Este processo é entendido como interação entre indivíduos e pode ser bom ou ruim. Geralmente está relacionado com metabólitos produzidos por plantas.

Resiliência

Capacidade de um sistema de absorver distúrbios e perturbações e manter suas funções e estruturas.

As bases ou premissas do CBC tornam sua aplicação essencial para a agricultura sustentável. Áreas de produção mais diversificadas no tempo e no espaço promovem aumento do controle biológico natural e conferem aos agroecossistemas maior estabilidade, resistência a perturbações e resiliência. Sua prática pode ser adotada para aumentar as chances de sucesso na aplicação dos outros métodos de controle biológico (introdução e aumento de inimigos naturais), bem como em associação com

outras estratégias de controle de pragas, como o uso de semioquímicos, manejo cultural e resistência de plantas. O CBC, que é a técnica mais simples de controle biológico, pode ser adotado por qualquer agricultor. No entanto, principalmente nos países em desenvolvimento, o conhecimento sobre como a diversificação de culturas e a manipulação de paisagens agrícolas podem favorecer o sucesso de inimigos naturais ainda é muito restrito aos estudos de laboratório sobre nutrição de insetos (Wyckhuys et al., 2013), faltando o desenvolvimento de tecnologias de redesenho da paisagem adequadas às diferentes condições ambientais e realidades socioculturais (Begg et al., 2017).

Controle biológico aumentativo

Quando os inimigos naturais que ocorrem naturalmente no agroecossistema não conseguem fornecer o nível de controle desejado de determinada praga, o aumento artificial da população de uma ou mais espécies de inimigos naturais

selecionados pode ser uma estratégia importante. Nesse caso, o aumento é feito por liberações do agente de controle biológico por meio das táticas inoculativa e inundativa. O procedimento mais comum é a produção massal do inimigo natural, em geral em fábricas comerciais altamente especializadas, e a liberação em campo de grande número de indivíduos com o objetivo de suprimir a praga em relativamente curto prazo. Essa estratégia de controle biológico é a mais apropriada quando o agente é um microrganismo e é muito adotada no Brasil para o controle de artrópodes e doenças de plantas. O aumento de inimigos naturais tem sido bem-sucedido quando o inimigo natural é passível de produção massal.

Na estratégia inoculativa, são realizadas liberações/aplicações de inimigos naturais durante certos períodos do ciclo da praga-alvo e/ou ciclo da cultura, buscando o estabelecimento desses inimigos naturais nos sistemas de cultivo (áreas abertas ou casas de vegetação). O controle da praga-alvo pode se dar por várias gerações sem a necessidade de novas liberações durante o mesmo ciclo de cultivo. Esse procedimento é frequentemente utilizado sazonalmente e é comum em ambientes de estufa, onde o controle biológico aumentativo de artrópodes-pragas tem sido especialmente bem-sucedido (Heinz et al., 2005). Os elementos mais importantes são a inoculação inicial no momento mais adequado e o potencial de reprodução ou replicação do agente biológico entre as gerações. No caso do uso de predadores e parasitoides em cultivos protegidos, o aumento no início da estação do cultivo pode ser uma estratégia efetiva. Outras estratégias, no entanto, podem ser mais eficazes para o aumento de inóculo de microrganismos patogênicos em plantas ou insetos que possuam meio efetivo de propagação na população hospedeira.

No controle biológico aumentativo com estratégia inundativa, os organismos benéficos são liberados periodicamente em grandes densidades buscando o controle imediato das populações de pragas, sem a expectativa do estabelecimento desses inimigos naturais nas áreas de liberação. Por causa das facilidades de manipulação e produção em meios de cultura, microrganismos têm sido os inimigos naturais mais utilizados em produção comercial em larga escala e usados da forma inundativa. A inundação difere da inoculação uma vez que frequentemente se baseia no uso de um número muito grande de inimigos naturais liberados em uma área para efeito imediato, em qualquer momento da estação ou estágio do ciclo de surto da praga. Ela depende tanto da capacidade de os inimigos naturais liberados suprimirem de forma imediata a população da praga quanto da confiabilidade e qualidade da produção em massa e do produto final que será liberado no ambiente. Embora os parasitoides e predadores de insetos também possam ser usados, a inundação é uma abordagem particularmente eficaz para agentes patogênicos microbianos e alguns antagonistas (Glare et al., 2012; Lacey et al., 2015). Alguns exemplos de sucesso no

uso de agentes de controle microbiano no Brasil são descritos no tópico a seguir sobre o histórico do controle biológico.

Acredita-se que o controle biológico aumentativo tenha sido usado pela primeira vez na China, cerca de 300 anos a.C. (Van Lenteren; Godfray, 2005), tendo sido aplicado com eficiência por mais de 100 anos (Van Lenteren et al., 2018). Ainda de acordo com os mesmos autores, mais de 440 espécies de agentes de controle biológico para inúmeras pragas estão disponíveis no mercado hoje, sendo aplicados em mais de 30 milhões de hectares em todo o mundo. A Europa é o maior mercado comercial de invertebrados (insetos, ácaros e nematoides), enquanto, na América do Norte, os agentes microbianos são os mais vendidos. Na América Latina, tem sido observado um forte crescimento do mercado (Parra, 2014), vindo em seguida a Ásia. Isso é atribuído ao aumento do profissionalismo da indústria do controle biológico, que consegue produzir em larga escala, de forma barata, com controle de qualidade adequado e eficientes embalagens, métodos de distribuição e de lançamento no mercado. No Brasil, existe uma tendência de produção massal de agentes de controle biológico nas propriedades rurais, o que é conhecido pelo nome de produção *on farm*. Isso se deve, em parte, à relativa dificuldade de obtenção do produto em algumas regiões do Brasil que ficam distantes das biofábricas e à expectativa de diminuir os custos do controle de pragas. Embora seja louvável a iniciativa e o interesse do agricultor em aplicar o controle biológico, por causa da especificidade e da complexidade dos procedimentos de produção, que variam de acordo com a espécie do inimigo natural, é preciso ter cautela quanto à qualidade e às efetividades dos agentes de controle biológico produzidos artesanalmente.

BREVE HISTÓRICO

Agricultores da Antiguidade já usavam, de forma intuitiva, certos organismos para suprimir pragas. Smith e Kennedy (2009) citam os registros feitos no Egito há cerca de 4 mil anos que retratam gatos sendo mantidos para proteger grãos armazenados contra roedores. Ao proteger o suprimento de alimentos dos humanos contra as pragas, esses animais estariam entre os primeiros agentes de controle biológico usados no mundo. Com o tempo, o entendimento das relações entre organismos levou ao desenvolvimento dos conceitos de predação, parasitismo e doenças em invertebrados, bem como de plantas invasoras e de doenças de plantas. Neste tópico, será apresentado um sumário dessa evolução no mundo e no Brasil, seguindo a sequência histórica de como ocorreu e evoluiu o conhecimento e o uso dos diferentes tipos de agentes de controle biológico de artrópodes, plantas invasoras

e doenças de plantas. Outros autores descreveram com maior detalhe o histórico e o desenvolvimento do controle biológico no mundo (Van den Bosh et al., 1982; Orr; Suh, 2000). O histórico e o desenvolvimento do controle biológico na América Latina foram amplamente abordados por Van Lenteren e Bueno (2003), Alves e Lopes (2008), e no Brasil por Parra (2014).

Predadores e parasitoides

Na Antiguidade, a primeira utilização de predadores como ferramenta no manejo de pragas foi feita na China há 3 mil anos (Olkowski; Zhang 1998). Agricultores colocavam ninhos da formiga *Oecophylla smaragdina* F. nas laranjeiras para protegê-las contra outros insetos. Há relatos de que os grandes ninhos de papel dessas formigas estiveram à venda desde então até, pelo menos, 1970, e de que eram muito eficientes na supressão de vários lepidópteros-pragas de citros (Orr; Suh, 2000). A predação, que é um comportamento fácil de ser observado e compreendido, foi adotada há mais tempo no manejo de pragas. O parasitismo, no entanto, tanto por patógenos quanto por invertebrados, demorou mais tempo para ser reconhecido, compreendido e aplicado. Os primeiros observadores de vespas parasitas emergindo de uma larva de borboleta interpretaram erroneamente o fenômeno como sendo transformação da larva da borboleta em outro estágio larval através de metamorfose. As pupas da vespa foram interpretadas como sendo ovos da borboleta (Silvestri, 1909, citado por Orr; Suh, 2000) e (Bodenheimer, 1931, citado por Van Driesche; Bellows, 1996). O parasitismo de insetos foi descrito primeiramente na literatura chinesa por Lu Dian, em 1069, e tratava-se do relato de moscas da família Tachinidae que parasitavam o bicho-da-seda (*Bombix mori* L.), mas o primeiro registro chinês com descrição correta do ciclo de vida de um parasitoide é de 1704 (Cai et al., 2004).

A entrada de espécies de insetos da Europa que se tornaram sérias pragas da agricultura nos Estados Unidos durante o século 19 levou os entomologistas americanos a considerarem as razões da diferença no status de praga desses insetos entre os dois continentes. Van Lenteren e Godfray (2005) afirmam que a primeira sugestão de que insetos-praga de origem europeia alcançam o status de praga nos EUA em razão da ausência de seus inimigos naturais indígenas foi feita em 1856, por Fitch, que também sugeriu que a importação desses inimigos proveria o remédio para a explosão populacional observada na região de ocorrência das pragas. Vários autores descreveram com riqueza de detalhes o desenvolvimento do controle biológico a partir de então.

A primeira importação de um invertebrado foi feita em 1873 pelo entomologista americano C. V. Riley, que enviou o ácaro *Tyroglyphus phylloxera* Riley e

Planchon dos Estados Unidos para a França, a fim de controlar a filoxera-da-uva (*Daktulosphaira vitifoliae* [Fitch]), um inseto diminuto da ordem Hemiptera, que ataca as raízes da videira e impede seu crescimento. O ácaro se estabeleceu, mas infelizmente não suprimiu a população da praga conforme esperado (Van Drieshe; Bellows, 1996). Depois, vários outros insetos entomófagos foram levados de um continente para outro e se estabeleceram. O primeiro grande sucesso de um inimigo natural na supressão da praga-alvo, em termos de controle econômico completo e sustentável da praga, foi o da joaninha predadora *Rodolia cardinalis* Mulsant, que foi introduzida na Califórnia para o controle da cochonilha australiana *Icerya purchasi* Maskell (pulgão-branco), que estava ameaçando destruir a indústria de citros do sul do estado. A procura minuciosa de um inimigo natural de *I. purchasi* foi feita na Austrália, terra de origem do inseto, durante 1887 e 1888. Dois anos após a liberação *R. cardinalis* nos laranjais da Califórnia, *I. purchasi* estava completamente controlada em todo o estado (DeBach, 1974).

Patógenos de invertebrados

A história da patologia de invertebrados foi documentada por Edward A. Steinhaus (1975) em seu livro *Disease in a Minor Cord*. Os primeiros relatos escritos sobre doenças de insetos são atribuídos às descrições de padecimento de abelhas, registradas por Aristóteles entre 330 a.C. e 323 a.C. No entanto, observações de doenças no bicho-da-seda foram registradas na China em 2.700 a.C. (Steinhaus, 1975).

Van Driesche e Bellows (1996) relatam que os fundamentos sobre patologia de invertebrados foram estabelecidos no livro *An Introduction to Entomology*, de autoria de Kirby e Spence (1815), em um capítulo intitulado Doenças de Insetos. O interesse levantado pelas doenças de insetos não foi relacionado à ação sobre insetos-pragas, mas sim sobre a necessidade de controlar os danos causados a insetos benéficos de grande importância comercial, como o bicho-da-seda (*B. mori*), criado para produção e manutenção da grande indústria da seda no Oriente, e a abelha *Apis mellifera*, cujo mel era a maior fonte de açúcar e ingrediente básico para bebidas alcoólicas no início das civilizações (Flexener; Belnavis, 2000).

Em 1835, o italiano Agostino Bassi de Lodi foi o primeiro a mostrar experimentalmente a natureza infecciosa do fungo *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin no bicho-da-seda. Foi ele que primeiro sugeriu o uso de patógenos causadores de doenças para matar insetos indesejáveis. Ele propôs que o líquido de cadáveres de insetos infectados em putrefação poderia ser misturado com água e aspergido sobre as folhagens para matar insetos. Bem mais tarde, em 1884, o entomologista russo Elie Metchnikoff desenvolveu uma estrutura de produção massal de esporos do fungo

M. anisopliae (Metchnikoff) Sorokin, e usou os esporos em testes de campo contra larvas do curculionídeo *Cleonus punctiventris* (Germar), praga da beterraba, obtendo entre 55%-80% de mortalidade (Driesche; Bellows, 1996).

Assim como o controle biológico com entomófagos, o uso de patógenos de insetos evoluiu de forma gradual na compreensão da biologia, da genética, da sistemática e da ecologia das interações praga-patógenos. Além disso, foram desenvolvidos métodos cada vez mais sofisticados e criativos de utilização de produção e formulação de agentes de controle biológico para controle de pragas.

Artrópodes e patógenos de plantas invasoras

Uma expansão lógica do conceito de uso de parasitoides e predadores para controlar insetos foi o uso de insetos fitófagos para controlar plantas invasoras. Harley e Forno (1992) relatam o primeiro grande programa de controle biológico de uma planta invasora, que teve início em 1902, quando insetos que se alimentavam de frutos e flores de *L. camara* (Perkins e Swezey) foram coletados por Koebele no México e introduzidos no Havaí para o controle dessa planta, que era uma invasora problemática no arquipélago. Esses insetos, que efetivamente colocaram em cheque a propagação da *Lantana* (malmequer) nas partes mais secas das ilhas do Havaí, foram posteriormente enviados para Austrália, Índia, África Oriental e África do Sul, e, depois da Austrália, para outros países (Harley; Forno, 1992). Vários programas de controle biológico de plantas invasoras foram conduzidos antes e depois da 2ª Guerra Mundial, incluindo o programa de controle biológico dos cactos *Opuntia inermis* e *Opuntia stricta*, na Austrália, que foi um grande sucesso. Julien et al. (1984) descrevem em detalhes esses programas. A partir de 1950, houve crescente interesse pelo controle biológico de invasoras, principalmente na Austrália, nos Estados Unidos, no Canadá e na África do Sul, com preponderante participação da International Organization of Biological Control (IOBC). Ele tem sido usado com sucesso em todo o mundo e é amplamente aceito como um método efetivo e seguro, tanto do ponto de vista econômico quanto ambiental.

A partir do sucesso do programa de controle biológico de *I. purchasi*, ao final do século 19, grande esforço foi dedicado ao controle biológico em todo o mundo. Tais esforços conduziram ao uso bem-sucedido de centenas de espécies de parasitoides, predadores e de patógenos de insetos e de plantas no controle biológico atual (Li et al., 2010; Parra, 2014; Van Lenteren et al., 2018). Os avanços atuais e futuros da pesquisa e da prática do controle biológico são objeto deste livro e serão descritos nos capítulos a seguir.

Controle biológico no Brasil

Muitos foram os programas que marcaram a trajetória do controle biológico no Brasil. Robs (1992) relata a introdução de *Prospaltella berlesei* (Howard) (Hymn., Aphelinidae) para o controle da cochonilha-branca da amoreira e do pessegueiro *Pseudaulacaspis pentagona* (Targ.-Tozz) no estado de São Paulo, afirmando que o programa teve ótimos resultados. Outras introduções se sucederam (Robs, 1992; Parra, 2014), porém, talvez por causa da característica empírica dessas introduções, comum aos programas de controle biológico à época, conforme relata Van den Bosh et al. (1982), os resultados de muitos desses programas não foram publicados. Pode-se afirmar, no entanto, que, no Brasil, um bom número de inimigos naturais foi objeto de uso em programas de controle biológico por importação, com liberações inoculativas e/ou inundativas de predadores, parasitoides e patógenos. O controle biológico aumentativo foi e tem sido também muito usado contra pragas exóticas e pragas nativas ou naturalizadas, envolvendo parasitoides, predadores e patógenos de insetos e ácaros. Esse histórico do controle biológico no Brasil foi descrito por vários autores, como Robbs (1992), Van Lenteren e Bueno (2003), Alves e Lopes (2008), Li et al. (2010) e Parra (2014). A seguir serão descritos alguns exemplos de sucesso para, sem demérito aos inúmeros outros programas, ilustrar a importante contribuição e efetividade da tática do controle biológico na agricultura brasileira.

O primeiro programa com evidências de sucesso do controle biológico por importação no Brasil, detalhadamente relatado por Salvadori e Salles (2002), foi o controle dos pulgões-do-trigo no Rio Grande do Sul, nas décadas de 1970-1980. Nos anos 1970, os pulgões se tornaram o principal problema da cultura do trigo no Rio Grande do Sul, exigindo uso intensivo de inseticidas químicos. Como as espécies de pulgão que causavam problemas à cultura, *Metopolophium dirhodum* (Walter) e *Sitobion avenae* (Fabricius), eram espécies exóticas, pesquisadores da Embrapa Trigo vislumbraram a possibilidade de introduzir inimigos naturais da região de origem das pragas. Em 1978, com o apoio da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) e da Universidade da Califórnia, teve início a introdução de parasitoides de diferentes países e regiões. Quatorze espécies de himenópteros parasitoides e duas espécies de coccinelídeos predadores foram introduzidas da Europa e do Oriente Médio e liberadas de forma inoculativa de 1982 até 1992, inclusive com a participação dos agricultores.

Além dos parasitoides, foram também introduzidos os predadores *Hippodamia convergens* Kirby e *Coccinella septempunctata* Linnaeus (Coleoptera: Coccinellidae) (Gansen; Tambasco, 1983; Gansen, 1999) dos Estados Unidos e Israel, respectivamente. Entre os parasitoides, o *Aphidius uzbekistanicus* se estabeleceu parasitando

o pulgão *S. avenae*, enquanto *Aphidius rhopalosiphi* De Stefani-Perez e *Praon volucre* (Holiday) se estabeleceram parasitando os pulgões *S. avenae* e *M. dirhodum*. Zúñiga (1982) observou que *P. volucre* passou também a atacar outros afídeos em plantas ornamentais, gramíneas e alfafa.

Outras duas espécies introduzidas, *Aphidius colemani* (Viereck) e *Diaeretiella rapae* (M'Intosh), foram também encontradas parasitando outros pulgões do gênero *Rhopalosiphum* e *Schizaphis*. Crescentes níveis de parasitismo foram observados entre 1980 e 1983, e os níveis populacionais de *S. avenae* e *M. dirhodum* foram drasticamente reduzidos (Zúñiga, 1982). A meta inicial do programa era atingir uma porcentagem de parasitismo suficiente para causar entre 10% e 15 % de mortalidade das pragas. No entanto, estima-se que essa meta foi grandemente ultrapassada, uma vez que foi observada redução do uso de inseticidas para o controle de pulgões em mais de 90% da área cultivada de trigo no Rio Grande do Sul (Embrapa, 1987). Atribui-se o grande sucesso à concepção de uso do controle biológico no contexto do manejo integrado de pragas. Estima-se que a economia de recursos financeiros tenha sido na ordem de 16,23 milhões de dólares (Salvadori; Salles, 2002).

Este sucesso foi seguido de outro caso muito relevante, que foi a liberação de parasitoides para o controle da cochonilha da mandioca, *Phenacoccus herreni* Cox e Williams (Hemiptera: Pseudococidae), no Nordeste do Brasil (Bento et al., 2002). A importação de inimigos naturais tomou impulso depois desses casos de sucesso e da construção e entrada em funcionamento, em 1991, do Laboratório de Quarentena "Costa Lima", na Embrapa Meio Ambiente, em Jaguariúna, São Paulo. Desde seu estabelecimento, cerca de 773 espécies de inimigos naturais, incluindo parasitoides, predadores (incluindo ácaros) e patógenos (fungos, bactérias e nematoides), foram importados (Sá, 2015).

Um caso mais recente de sucesso do controle biológico clássico no Brasil foi o da mosca-minadora-dos-citros *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracilariidae), descrito detalhadamente por Chagas et al. (2002). A presença da mosca no Brasil foi detectada nos anos 1990 e, a partir daí, a cultura passou a apresentar vários problemas fitossanitários causados pelo dano direto da mosca e pelo favorecimento ao desenvolvimento de fitopatógenos, como a bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*, causadora do cancro cítrico, por causa das galerias feitas nas folhas pela mosca-minadora. Em 1998, cerca de 2 anos após a constatação da presença da praga no Brasil, pesquisadores da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, da Universidade de São Paulo (Esalq/USP), e vários colaboradores introduziram da Flórida (EUA) o parasitoide de ovos e/ou lagartas, *Ageniaspis citricola* Logvinovskaya (Hymenoptera: Encyrtidae). Técnicas de criação e produção do parasitoide foram aprimoradas para posterior liberação massal em campo em 1998, primeiramente em

municípios de São Paulo, obtendo sucesso imediato no controle da praga no estado. O sucesso obtido motivou a liberação posterior em outros estados produtores de citros, como Minas Gerais, Paraná, Rio Grande do Sul, Piauí, Sergipe, Bahia e Rio de Janeiro, e também no Uruguai. Parra (2004) descreve que, até dezembro de 2003, somente no estado de São Paulo foram liberados 85 mil parasitoides distribuídos em mais de 75 municípios. *Ageniaspis citricola* foi recuperado em campo 3 meses após a liberação inicial e, em 2004, cerca de 6 anos após sua primeira liberação em campo, ele foi encontrado em 22 localidades em São Paulo onde foram feitas amostragens. Constatou-se ainda sua presença nos demais estados onde foi liberado, com registros de taxas de parasitismo que variaram entre 40% e 98%, mesmo onde havia aplicação de agrotóxicos. Em 2004, seis anos após sua liberação, *A. citricola* estava estabelecido e exercendo bom nível de controle sobre a mosca-minadora-dos-citros em 100% das áreas citrícolas do Brasil (Parra, 2004).

Nos dias de hoje, a principal ameaça fitossanitária à citricultura no Brasil é o *greening*, doença causada pelas bactérias *Candidatus Liberibacter asiaticus* e *C. Liberibacter americanus* e por um fitoplasma, os quais são primariamente transmitidos às plantas de citros pelo psilídeo (*Diaphorina citri* Kuwayama). Encontra-se em andamento um programa de controle biológico através do micro-himenóptero *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) (Parra et al. 2016).

Esses são apenas alguns exemplos de sucesso do controle biológico clássico no Brasil. Outros mereceriam também destaque aqui, como o programa de controle de *Sirex noctilio* Fabr., a vespa-da-madeira, nos estados da região Sul do Brasil. Para combater essa praga exótica que ataca *Pinus* spp., foram introduzidos no Brasil o nematoide *Delanus siricidicola* e parasitoides de ovos e larvas, com sucesso considerável no estabelecimento dos inimigos naturais e redução das populações da vespa (Penteado et al., 2012). Parasitoides têm sido também muito usados em programas de controle biológico aumentativo (Parra 2004; Parra; Zucchi 2004), incluindo os parasitoides de ovos *Trissolcus basali* na soja (Corrêa-Ferreira et al., 2000) e *Trichogramma* spp. em várias culturas (Cônoli et al., 2010).

Entre os entomopatógenos, um dos casos de destaque no Brasil e no mundo foi o programa de controle da lagarta da soja, *Anticarsia gemmatalis* Hübner, com o *Baculovirus anticarsia* (AgNPV), nos anos 1980 e 1990, no estado do Paraná. A implementação do programa teve início em 1982-1983, quando aproximadamente 2 mil hectares de soja foram tratados com AgNPV. Larvas mortas infectadas com o vírus foram distribuídas para extensionistas para demonstração aos produtores sobre como produzir o vírus no campo. Campos de soja plantados para a produção do bioinseticida, infestados com *A. gemmatalis*, eram inundados com o vírus. As larvas mortas eram coletadas e congeladas para uso posterior. Durante a safra da soja, quando

as lagartas começavam a infestar o campo, as larvas infectadas e congeladas, eram maceradas e misturadas com água para posterior aplicação na lavoura (Moscardi, 1999). Posteriormente, uma formulação de pó molhável à base de caulim foi usada, predominantemente, e, a partir de 1991, cinco empresas privadas começaram a produzir e comercializar o AgNPV. A área de soja tratada chegou a 1,2 milhão de hectares em 1998.

Outros microrganismos foram utilizados em programas de controle biológico no Brasil. Li et al. (2010) relatam que fungos entomopatogênicos como agentes de controle biológico têm sido estudados no Brasil desde 1920, quando a espécie posteriormente identificada como *M. anisopliae* foi encontrada atacando duas espécies não identificadas de cercopídeos. Li et al. (2010) seguem relatando que, em 1925, um isolado de *M. anisopliae* foi introduzido de Trinidad e testado para o controle de *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae), uma praga da cana-de-açúcar. Após a detecção de fungos que causavam doenças em diferentes insetos em estados do Norte e do Nordeste do País, *M. anisopliae* e *B. bassiana* passaram a ser mais intensamente estudados e posteriormente usados em grandes áreas agrícolas. Em 2008, a área tratada com *M. anisopliae* para o controle de cigarrinhas era estimada em aproximadamente 1 milhão de hectares, 75% dos quais foram para o controle de *Mahanarva posticata* e *M. fimbriolata* em plantações de cana-de-açúcar, nas regiões Nordeste e Sudeste, e o restante para cigarrinhas em pastagem (Li et al., 2010).

Talvez o programa mais duradouro que envolva o aumento de inimigos naturais em liberações inoculativas e inundativas, uma vez que ainda é usado hoje e para muitos está entre os melhores do mundo, seja o programa de controle de duas pragas da cana-de-açúcar, a broca-da-cana [*Diatraea saccharalis* (Fabr.)] e a cigarrinha-da-cana-de-açúcar (*M. fimbriolata*). Metade da área plantada com cana-de-açúcar no Brasil, cerca de 4 milhões de hectares, é tratada com os parasitoides *Cotesia flavipes* (Cameron) e/ou *Trichogramma galloi* Zucchi para o controle de lagartas da broca-da-cana (*D. saccharalis*) e com *M. anisopliae* para o controle de *M. fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae) (Parra, 2014).

Muitos outros inimigos naturais, incluindo bactérias, vírus, fungos e artrópodes predadores, são hoje explorados como agentes de controle biológico de insetos, ácaros, nematoides e doenças de plantas e plantas invasoras, como será relatado nos capítulos a seguir. Pode-se dizer que esses e outros casos de sucesso consolidaram o controle biológico no Brasil, que hoje constitui um dos mais promissores elementos do manejo de pragas, num cenário em que os efeitos colaterais e ambientais do uso excessivo e muitas vezes abusivo dos agrotóxicos ainda predominam. Percebe-se que a maior conscientização e dedicação dos pesquisadores tem dado novo ímpeto ao controle biológico, resultado também do interesse dos agricultores por práticas

agrícolas mais amenas à saúde e ao meio ambiente e da pressão da população brasileira, que clama por uma agricultura sustentável, alimentos saudáveis e um ambiente limpo, onde todas as espécies vivas convivam de forma harmônica.

REFERÊNCIAS

- ALVES, S. B.; LOPES, R. B. (Ed.). **Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios**. Piracicaba: Fealq, 2008. 414 p. (Biblioteca de Ciências Agrária Luiz de Queiroz, 14).
- AMARAL, D. S. S. L.; VENZON, M.; DUARTE, M. V. A.; SOUZA, F. F.; PALLINI, A.; HARWOOD, J. D. Non-crop vegetation associated with chili pepper agroecosystems promote the abundance and survival of aphid predators. **Biological Control**, v. 64, n. 3, p. 338-346, Mar. 2013. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2012.12.006.
- AMARAL, D. S. S. L.; VENZON, M.; SANTOS, H. H.; SUJII, E. R.; SCHMIDT, J. M.; HARWOOD, J. D. Non-crop plant communities conserve spider populations in chili pepper agroecosystems. **Biological Control**, v. 103, p. 69-77, Dec. 2016. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2016.07.007.
- AUCLAIR, J. L. Aphid feeding and nutrition. **Annual Review of Entomology**, v. 8, p. 439-490, 1963
- BARBOSA, P. (Ed.). **Conservation biological control**. San Diogo: Academic Press. 1998. 396 p.
- BEGG, G. S.; COOK, S. M.; DYE, R.; FERRANTE, M.; FRANCK, P.; LAVIGNE, C.; LÖVEI, G. L.; MANSION-VAQUIE, A.; PELL, J. K.; PETIT, S.; QUESADA, N.; RICCI, B.; WRATTEN, S.; BIRCH, A. N. E. A functional overview of conservation biological control. **Crop Protection**, v. 97, p. 145-158, July 2017. DOI: 10.1016/j.cropro.2016.11.008.
- BENTO, J. M. S. MORAES, G. J.; WARUMBY, J. F.; BELLOTI, A. C. Controle biológico da coconilha no nordeste do Brasil. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 395-408.
- CAI, W. Z.; YAN, L. Y.; LI, L. Y. The earliest records of insect parasitoids in China. **Biological Control**, v. 32, n. 1, p. 8-11, Jan. 2004. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2004.08.002.
- CHAGAS, M. C. M.; PARRA, J. R. P.; MILANO, P.; NASCIMENTO, A. M.; PARRA, A. L. G. C.; YAMAMOTO, P. T. *Ageniaspis citricola*: criação e estabelecimento no Brasil. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 377-394.
- CÔNSOLI, F. L.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on Trichogramma**. London: Springer, 2010. 479 p. (Progress in biological control, 9).
- CORRÊA-FERREIRA, B. S.; DOMIT, L. A.; MORALES, L.; GUIMARÃES, R. C. Integrated soybean pest management in micro river basins in Brazil. **Integrated Pest Management Reviews**, v. 5, n. 2, p. 75-80, 2000.
- DEBACH, P. **Biological control by natural enemies**. London: Cambridge University, 1974. 323 p.
- DEBACH, P.; ROSEN, D. **Biological control by natural enemies**. 2. ed. London: Cambridge University, 1991. 440 p.
- EILENBERG, J.; HAJEK, A.; LOMER, C. Suggestions for unifying the terminology in biological control. **BioControl**, v. 46, n. 4, p. 387-400, Dec. 2001.
- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Trigo. **Dia de campo 1987: avaliação dos impactos sociais e econômicos da tecnologia gerada pelo Centro Nacional de Pesquisa de Trigo**. Passo Fundo: Embrapa-CNPT, 1987. 38 p. (EMBRAPA-CNPT. Documentos, 3).

- FIEDLER, A. K.; LANDIS, D. A.; WRATTEN, S. D. Maximizing ecosystem services from conservation biological control: the role of habitat management. **Biological Control**, v. 45, n. 2, p. 254-271, May 2008. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2007.12.009.
- FLEXNER, J.; BELNAVIS, D. Microbial insecticides. In: RECHCIGL, J. E.; RECHCIGL, N. A. **Biological and biotechnological control of insect pests**. New York: Lewis Publishers, 2000. p. 33-62.
- GASSEN, D. N. **Controle biológico de pulgões de trigo no Brasil**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 1999. 4 p. (Embrapa Trigo. Comunicado técnico, 15).
- GASSEN, D. N.; TAMBASCO, F. J. Controle biológico dos pulgões do trigo no Brasil. **Informe Agropecuário**, v. 19, n. 104, p. 49-51, 1983.
- GLARE, T. J.; CARADUS, W.; GELERNTER, T.; JACKSON, T.; KEYHANI, N.; KÖHL, J.; MARRONE P.; MORIN, L.; E STEWART, A. Have biopesticides come of age? **Trends in Biotechnology**, v. 30, n. 5, p. 250-258, May 2012. DOI: 10.1016/j.tibtech.2012.01.003.
- GUIMARÃES, P. T. G.; NOGUEIRA, F. D.; LIMA, P. C. de; GUIMARÃES, M. J. C. L.; POZZA, A. A. A. Adubação e nutrição do cafeeiro em sistema orgânico de produção. **Informe Agropecuário**, v. 23, n. 214-215, p. 63-81, 2001.
- GURR, G. M.; LU, Z.; ZHENG, X.; XU, H.; ZHU, P.; CHEN, G.; YAO, X.; CHENG, J.; ZHU, Z.; CATINDIG, J. L.; VILLAREA, S.; CHIEN, H. V.; CUONG, L. Q.; CHANNOO, C.; CHENGWATTANA, N.; LAN, L. P.; HAI, L. H.; CHAIWONG, J.; NICOL, H. I.; PEROVIC, D. J.; WRATTEN, S. D.; HEONG, K. L. Multi-country evidence that crop diversification promotes ecological intensification of agriculture. **Nature Plants**, v. 2, art. number 16014, p. 1-4, Feb. 2016.
- HARLEY, K. L. S.; FORNO, I. W. **Biological control of weeds: a handbook for practitioners and students**. Melbourne: Inkara Press, 1992. 74 p.
- HEIMPEL, G. E.; MILLS, N. J. **Biological Control: ecology and applications**. Cambridge: Cambridge University Press. 2017. 297 p. DOI: 10.1017/9781139029117.
- HEINZ, K. M.; DRIESCHE, R.; PARRELLA, M. P. **Biocontrol in protected culture**. 2. ed. [S.l.]: Chicago Review Press, 2005. 560 p.
- HOKKANEN, H.; PIMENTEL, D. New approach for selecting biocontrol agents. **Canadian entomologist**, v. 116, p. 1109-1121, 1984. DOI: 10.4039/Ent1161109-8.
- IBAMA. **Instrução Normativa nº 5 de 20 de março de 2014**. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/sophia/cnia/legislacao/IBAMA/IN0005-260816.pdf>>. Acesso em: 29 jul. 2019.
- JONSSON, M.; WRATTEN, S. D.; LANDIS, D. A.; GURR, G. M. Recent advances in conservation biological control of arthropods by arthropods. **Biological Control**, v. 45, n. 2, p. 172-175, May 2008. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2008.01.006.
- JULIEN, M. H.; KERR, J. D.; CHAN, R. R. Biological control of weeds: an evaluation. **Protection Ecology**, v. 7, p. 3-25, 1984.
- LACEY L. A.; GRZYWACZ D.; SHAPIRO-ILAN D. I.; FRUTOS R.; BROWNBIDGE M.; GOETTEL M. S. Insect pathogens as biological control agents: back to the future. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 132, p. 1-41, 2015. DOI: 10.1016/j.jip.2015.07.009.
- LI, Z.; ALVES, S. S.; ROBERTS, D.; FAN, M.; DELALIVERA, I.; TANG, J.; LOPES, R. B.; FARIA, M.; RANGEL, D. E. N. Biological control of insects in Brazil and China: history, current programs and reasons for their successes using entomopathogenic fungi. **Biocontrol Science & Technology**, v. 20, p. 117-136, Aug. 2010. DOI: 10.1080/09583150903431665.

- LIXA, A. T.; CAMPOS, J. M.; RESENDE, A. L. S.; SILVA, J. C.; ALMEIDA, M. M. T.B.; AGUIAR-MENEZES, E. L. Diversidade de Coccinellidae (Coleoptera) em plantas aromáticas (Apiaceae) como sítios de sobrevivência e reprodução em sistema agroecológico. **Neotropical Entomology**, v. 39, p. 354-359, 2010.
- MEDEIROS, M. A. de; RIBEIRO, M. A.; MORAIS, H. C.; CASTELO BRANCO, M.; SUJII, E. R.; SALGADO LABORIAU, M. L. Identification of plant families associated with the predators *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) and *Hippodamia convergens* Guérin-Ménéville (Coleoptera: Coccinellidae) using pollen grain as a natural marker. **Brazilian Journal of Biology**, v. 70, n. 2, p. 293-300, 2010.
- MOSCARDI, F. Assessment of the application of baculoviruses for control of lepidoptera. **Annual Review of Entomology**, v. 44, p. 257-289, 1999. DOI: 10.1146/annurev.ento.44.1.257.
- MYERS, J. H.; BAZELY, D. **Ecology and control of introduced plants**. Cambridge: Cambridge University Press, 2003. 313 p.
- OLKOWSKI, W.; ZHANG, A. Habitat management for biological control, examples from China. In: PICKETT, C.H.; BUGG, R. L. (Ed.) **Enhancing biological control**. Berkeley: University of California Press, 1998. p. 255-270.
- ORR, D. B.; SUH, P. C. Parasitoids and predators. In: RECHCIGL, J. E.; RECHCIGL, N. A. (Ed.). **Biological and biotechnological control of insect pests**. New York: Lewis Publishers, 2000. p. 3-34.
- PARRA, J. R. P. Biological Control in Brazil. **Scientia Agricola**, v. 71, n. 5, p. 420-429, Sept./Oct. 2014. DOI: 10.1590/0103-9016-2014-0167.
- PARRA, J. R. P.; ALVES, G. R.; DINIZ, A. J. F.; VIEIRA, J. M. 2016. *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae): mass rearing and potential use of the parasitoid in Brazil. **Journal of Integrated Pest Management**, v. 7, n. 1, p. 1-11, Jan. 2016. DOI: 10.1093/jipm/pmw003.
- PARRA, J. R. P.; BENTO, J. M. S.; CHAGAS, M. C. M.; YAMAMOTO, P. T. O controle biológico da larva-minadora-dos-citrus. **Visão Agrícola**, v. 1, n. 2, p. 65-67, jul./dez. 2004.
- PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. *Trichogramma* in Brazil: feasibility of use after twenty years of research. **Neotropical Entomology**, v. 33, n. 3, p. 271-281, May/June 2004. DOI: 10.1590/S1519-566X2004000300001.
- PAULA, D. P.; ANDOW, D. A.; PIRES, C. S. S.; SUJII, E. R. Impacto da introdução de pragas agrícolas. In: SUGAYMA, R. L.; SILVA M. L. da; SILVA, S. X, de B.; RIBEIRO, L. C.; RANGEL, L. E. P. (Org.). **Defesa vegetal: fundamentos, ferramentas, políticas e perspectivas**. Belo Horizonte: SBDA, 2015. p. 79-102.
- PENTEADO, S. R. C.; IEDE, E. T.; REIS FILHO, W. Programa Nacional de Controle à Vespa-da-Madeira no Brasil. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE PRAGAS QUARENTENÁRIAS FLORESTAIS, 2012, Colombo. **Anais...** Colombo: Embrapa Florestas, 2012. p. 53-58. (Embrapa Florestas. Documentos, 244).
- ROBBS, C. F. Subsídios ao histórico do controle biológico de artrópodes fitófagos no Brasil. In: CICLO DE PALESTRAS SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE PRAGAS, 2., 1991, Campinas. **Anais...** Campinas: Fundação Cargill, 1992. p. 21-29.
- SÁ, L. A. N. de. Importação de inimigos naturais para o controle biológico de pragas. In: SIMPÓSIO DE PRAGAS QUARENTENÁRIAS NA AMAZÔNIA BRASILEIRA, 1., 2015, Boa Vista. **Anais...** Boa Vista: Embrapa Roraima, 2015. 5 p.
- SALVADORI, J. R.; SALLES, L. A. Controle biológico dos pulgões do trigo. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 427-447.
- SANTOS, I. C. dos; LIMA, P. C. de; ALCÂNTARA, E. N. dos; MATTOS, R. N.; MELO, A. V. de. Manejo de entrelinhas em cafezais orgânicos. **Informe Agropecuário**, v. 23, n. 214/215, p. 115-126, 2001.

SILVEIRA, L. C. P.; BUENO, V. H. P.; PIERRE, L. S. R.; MENDES, S. M. Plantas cultivadas e invasoras como habitat para predadores do gênero *Orius* (Wolff) (Heteroptera: Anthocoridae). **Bragantia**, v. 62, n. 2, p. 261-265, 2003. DOI: 10.1590/S0006-87052003000200010.

SMITH, E. H.; KENNEDY, G. G. History of entomology. In: RESH, V. H.; CARDÂE, R. T. **Encyclopedia of insects**. 2. ed. Amsterdam: Elsevier/Academic Press, 2009. p. 449-585.

SMITH, H. S. On some phases of insect control by the biological method. **Journal of Economic Entomology**, v. 12, n. 47, p. 288-292, Aug. 1919. DOI: 10.1093/jee/12.4.2881.

STEINHOUSE, E. A. **Disease in a Minor Cord**. Ohio: University Press. 1975. 508 p.

STENSETH, N. C.; SMITH, J. M. Coevolution in ecosystems: red queen evolution or stasis? **Evolution**, v. 38 p. 870-880, Nov. 1984. DOI: 10.1111/j.1558-5646.1984.tb00358.x.

TAVARES, W. S.; CRUZ, I.; SILVA, R. B.; FIGUEIREDO, M. L. C.; RAMALHO, F. S.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. C. Soil organisms associated to the weed suppressant *Crotalaria juncea* (Fabaceae) and its importance as a refuge for natural enemies. **Planta Daninha**, v. 29, n. 3, p. 473-479, July/Sept. 2011. DOI: 10.1590/S0100-8358201100030000.

TOGNI, P. H. B.; FRIZZAS, M. R.; MEDEIROS, M. A.; NAKASU, E. Y. T.; PIRES C. S. S.; SUJII, E. R. Dinâmica populacional de *Bemisia tabaci* biótipo B em tomate monocultivo e consorciado com coentro sob cultivo orgânico e convencional. **Horticultura Brasileira**, v. 27, p. 183-188, 2009.

VAN DEN BOSCH, R.; MESSENGER, P. S.; GUTIERREZ, A. P. **An introduction to biological control**. New York: Plenum Press, 1982. 247 p.

VAN DRIESCHE, R. G.; BELLOWS JUNIOR, T. S. **Biological control**. New York: Chapman & Hall, 1996. 539 p.

VAN LENTEREN, J. C.; GODFRAY, H. C. J. European science in the Enlightenment and the discovery of the insect parasitoid life cycle in The Netherlands and Great Britain. **Biological Control**, v. 32, n. 1, p. 12-24, 2005. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2004.08.009.

VAN LENTEREN, J. C.; BALE, J.; BIGLER, F.; HOKKANEN, H. M. T.; LOOMANS, A. J. M. Assessing risks of releasing exotic biological control agents of arthropod pests. **Annual Review of Entomology**, v. 51, p. 609-364, Jan. 2006. DOI: 10.1146/annurev.ento.51.110104.151129.

VAN LENTEREN, J. C.; BOLCKMANS, K.; KÖHL, J.; RAVENSBERG, W. J.; URBANEJA, A. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. **Biocontrol**, v. 63, p. 39-59, 2018.

VAN LENTEREN, J. C.; BUENO, V. H. P. Augmentative biological control of arthropods in Latin America. **BioControl**, v. 48, n. 2, p. 123-139, 2003.

VENZON, M.; ROSADO, M. C.; EUZEBIO, D. E.; SOUZA, B.; SCHOEREDER, J. H. Suitability of leguminous cover crop pollens as food source for the green lacewing *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). **Neotropical Entomology**, v. 35, n. 3, p. 371-376, May/June 2006. DOI: 10.1590/S1519-566X2006000300012.

WAY, M. J. Mutualism between ants and *honeydew* producing Homoptera. **Annual Review of Entomology**, v. 8, p. 307-344, 1963.

WYCKHUYS, K. A. G.; LU, Y.; MORALES, H.; VAZQUEZ, L. L.; LEGASPI, J. C.; ELIOPOULOS, P. A.; HERNANDEZ, L. M. Current status and potential of conservation biological control for agriculture in the developing world. **Biological Control**, v. 65, n. 1, p. 152-167, Apr. 2013. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2012.11.010.

ZÚÑIGA, E. **Controle biológico dos afídeos do trigo (Homoptera: Aphididae) por meio de parasitoides no planalto médio do Rio Grande do Sul, Brasil**. 1982. 319 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

CAPÍTULO 2

Relações ecológicas no controle biológico

Edison Ryoiti Sujii

Carmen Silvia Soares Pires

Eliana Maria Gouveia Fontes

Érica Sevilha Harterreiten-Souza

Marcos Rodrigues de Faria

O controle biológico ocorre basicamente na forma de interações tróficas, quando os organismos que obtêm nutrientes e energia ao longo das cadeias alimentares contribuem para que a abundância das espécies mantenha algum grau de equilíbrio na natureza. Essas relações ocorrem entre populações que habitam o mesmo ambiente e formam uma comunidade, que está distribuída por uma rede de interações tróficas nas quais cada espécie exerce uma função. Nos ambientes terrestres, as plantas são os produtores primários dessa comunidade, capazes de transformar, por meio da fotossíntese, componentes inorgânicos, como água e nutrientes, em biomassa que servirá de fonte de alimento e energia para toda a cadeia de consumidores que se forma a partir desse recurso (Figura 1).

O grupo funcional dos organismos que se alimentam das plantas, os consumidores primários – animais ou microrganismos –, são pragas potenciais quando prejudicam plantas e outros recursos com valor percebido pelo homem. No próximo nível da cadeia alimentar, estão os consumidores secundários e de ordem superior, terciários e assim por diante, que se alimentam dos consumidores primários por meio de interações tróficas ou antagônicas controlando essas populações. Dessa forma, conhecer as propriedades que regem a dinâmica das populações das espécies que compõem essas teias tróficas e controlam seu crescimento é essencial para compreensão do controle biológico na natureza e sua aplicação bem-sucedida em sistemas agrícolas.

Nos agroecossistemas, as cadeias alimentares não são apenas verticais e lineares. Há uma rede de interações conhecidas por teias tróficas (Figura 1). Os consumidores de ordens superiores, que são denominados predadores, parasitoides e patógenos, formam uma complexa rede de interação mútua entre si e com os consumidores de primeira ordem (que são os herbívoros ou fitófagos) e com as plantas. Essas interações tróficas afetam a abundância relativa das espécies dessas comunidades por causa da competição e do sinergismo entre elas nos diferentes

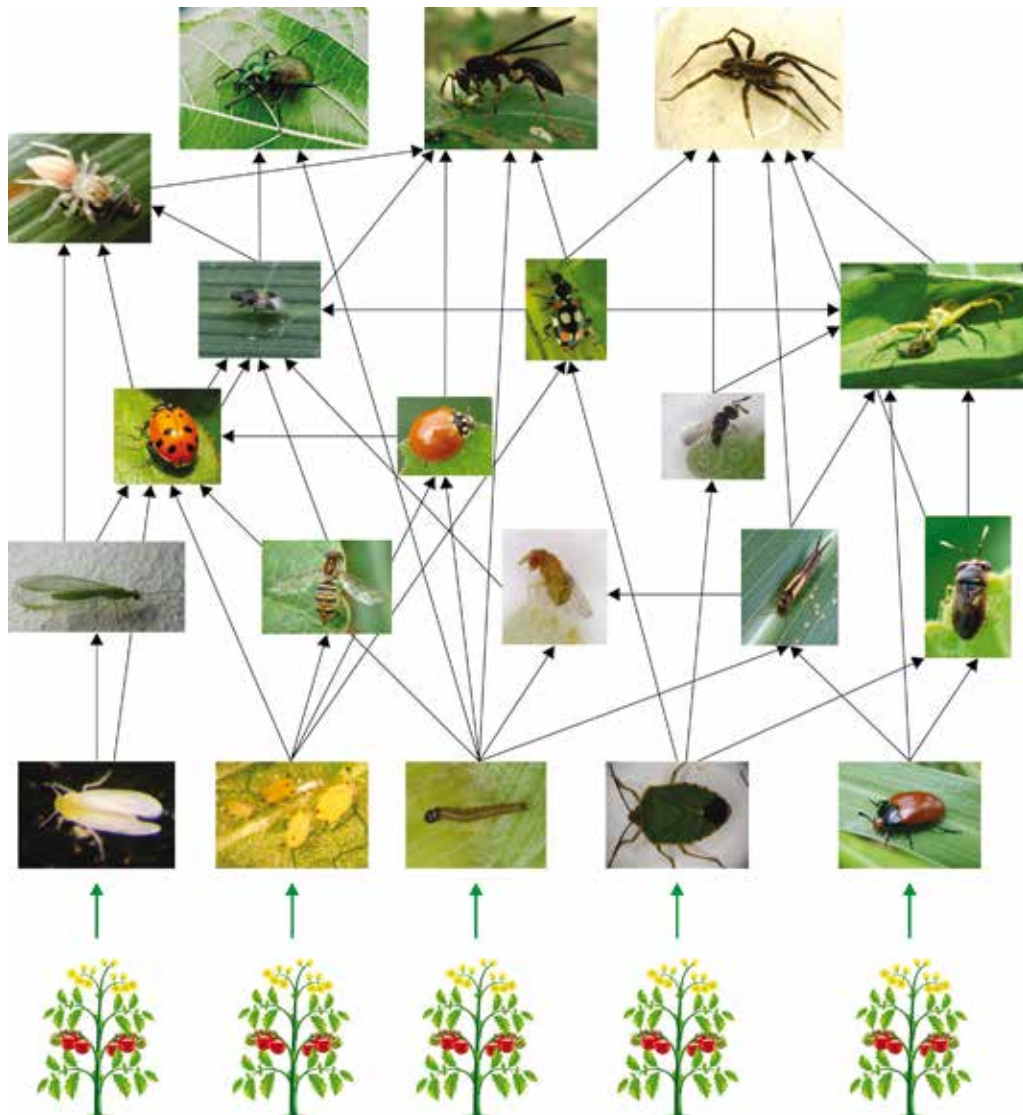


Figura 1. Exemplo de teia trófica parcial que mostra a complexidade das interações entre organismos produtores (plantas) e consumidores (herbívoros, fitófagos, parasitoides, patógenos, etc.) de diferentes níveis.

Fotos: Érica Harterreiten-Sousa, Francisco Schmidt e Raul Laumann

níveis tróficos. O conhecimento do funcionamento dessas intrincadas interações permite o entendimento de como a introdução de um agente de controle biológico exótico, como no caso do controle biológico clássico, pode alterar a estrutura da comunidade de inimigos naturais existentes em um agroecossistema e as consequências, instantâneas ou em longo prazo, dessa introdução na população de pragas. Da mesma forma, a mudança na abundância de um inimigo natural pela sua liberação massal, usando a estratégia de controle aumentativo, pode ter impacto imediato ou posterior na teia trófica e modificar a população de pragas.

Na sequência, apresentam-se alguns conceitos básicos da teoria ecológica aplicada a insetos-praga e seus inimigos naturais, bem como os fatores que controlam a dinâmica de suas populações e efeitos das interações tróficas entre espécies de artrópodes e entre artrópodes e microrganismos na regulação populacional de pragas. O entendimento desses conceitos será fundamental para o uso bem-sucedido de agentes de controle biológico no manejo de artrópodes-pragas da agricultura. Muitos dos conceitos aqui apresentados dão uma ideia geral sobre o funcionamento do controle biológico de doenças de plantas e de plantas invasoras, mas as relações entre microrganismos antagonistas e plantas e seus patógenos apresentam particularidades que são aprofundadas em outros capítulos deste livro.

CONCEITOS BÁSICOS DA TEORIA ECOLÓGICA

O conceito de população é central para o entendimento do controle biológico como um processo ecológico natural e que pode ser aplicado pelo homem no controle de pragas em ecossistemas artificiais como as áreas agrícolas. Com base nesse conceito, será possível, ao longo do capítulo, discutir como a dinâmica do crescimento populacional se comporta diante das diferentes interações intra e interespecíficas.

O conceito adotado neste capítulo é o de população local, por causa do enfoque no controle de pragas agrícolas abordado. População é um grupo de indivíduos da mesma espécie, que habita a mesma área e cujas mudanças numéricas são determinadas por processos de nascimento e morte, dispersão e migração (Andrewartha; Birch, 1984). Essa definição é importante para que se possa estabelecer refere-se ao conjunto de indivíduos de uma espécie especialista, como o bicudo-do-algodoeiro [*Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae)], que pode estar restrita a uma propriedade isolada que cultiva o algodoeiro, ou a uma espécie generalista, como a mosca-branca [*Bemisia tabaci*

Regulação populacional
Flutuação populacional entre limites máximos e mínimos em relação a um ponto de equilíbrio.

(Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae)], capaz de colonizar mais de 600 espécies de plantas e ter sua população espalhada por várias propriedades em uma região.

A delimitação do conceito de população ao nível específico e a uma escala espacial (propriedade ou conjunto de propriedades), assim como os processos básicos que alteram sua abundância, permite, a partir desse ponto, que se discuta a dinâmica do crescimento populacional.

Crescimento populacional geométrico

O primeiro princípio ecológico da dinâmica populacional está relacionado a uma propriedade fundamental e evidente de que todas as populações de organismos vivos crescem geometricamente quando não sofrem efeitos do ambiente em que estão inseridos (Berryman, 2003). Esse princípio traz como consequência uma curva característica de crescimento das populações, com a forma de um *J* invertido, em que a abundância das espécies ao longo das gerações é regida pela taxa de crescimento intrínseco, característica e constante dessa espécie, indicada em ecologia pela letra *r* (Figura 2). Dessa forma, uma espécie que apresenta taxa de crescimento $r = 2$ será capaz de aumentar sua população em oito vezes em apenas três gerações. No entanto, outra espécie com $r = 10$ será capaz de aumentar sua população em mil vezes nas mesmas três gerações. Pragas agrícolas como diversas mariposas da família Noctuidae (ex.: lagarta-da-soja, lagarta-do-cartucho-do-milho e curuquerê-do-algodoeiro) são capazes de colocar entre 100 e 300 ovos por fêmea, além de completar seu ciclo vital de ovo a adulto (geração) em menos de 30 dias. Assim, percebe-se como pode ser dramático o crescimento das populações, alcançando valores milionários em apenas uma estação do ano ou uma safra agrícola (Figura 2).

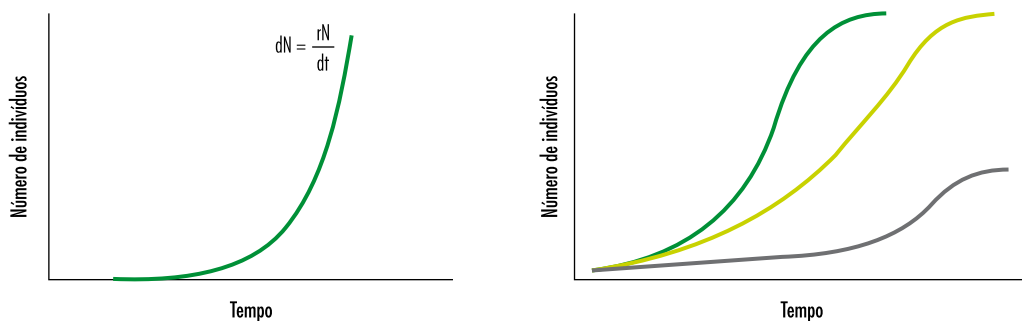


Figura 2. Curvas teóricas de crescimento exponencial de populações de organismos vivos (N) com formato em *J* característico, em que a taxa de crescimento intrínseco (r) determina o formato da curva e a velocidade de crescimento da população (dN) num determinado período de tempo (dt).

Percebe-se nas curvas duas regiões distintas. Uma inicial onde o crescimento populacional ocorre de forma lenta e uma segunda fase onde o crescimento é acelerado por causa de uma propriedade matemática do modelo de crescimento proposto. Na natureza, essa mudança também pode ser percebida nas populações em que os indivíduos são favorecidos pelo aumento de sua densidade em razão da facilidade de encontro para cópulas, modificação do microambiente para forrageamento e reprodução, além de defesa contra predadores. Essa interação intraespecífica que favorece o crescimento das populações é conhecida como efeito Allee (Allee, 1932).

A partir desse ponto, não se pode mais ignorar o efeito do ambiente sobre as populações e será assumido um modelo mais elaborado que incorpore tanto o efeito das interações entre os indivíduos da mesma população, ou intraespecífica, quanto as interações entre indivíduos de diferentes espécies, ou interespecíficas, assim como o efeito do ambiente físico, para que se possa compreender a dinâmica populacional das espécies.

Competição e crescimento logístico

A primeira característica evidente nas interações intraespecíficas é a de que, embora o aumento da densidade de indivíduos possa ter um papel benéfico para seu crescimento populacional (efeito Allee), esse benefício somente será sustentável se houver disponibilidade infinita de recursos. Na natureza, os recursos biológicos, como alimentos, refúgios e locais para reprodução, apesar de variáveis em relação ao ambiente e ao tempo, são limitados na maioria das situações. O aumento da densidade dos indivíduos causará então uma competição progressivamente maior por esses recursos, com reflexos negativos na adaptabilidade (reprodução, desenvolvimento e longevidade), além de efeitos negativos também progressivamente maiores na redução da taxa de crescimento intrínseco da população. Ou seja, a população irá crescer a uma taxa cada vez menor, diretamente relacionada à razão inversa entre o aumento no número de indivíduos e a quantidade do recurso limitado. Esse é o princípio desenvolvido por Verhulst (1838 citado por Hassel, 1978) ao propor a “curva de crescimento logístico” (Figura 3A). O limite de recursos disponível no sistema, a partir do qual a população não teria mais condições de aumentar, é conhecido como capacidade de suporte de sistemas, indicada em ecologia pela letra maiúscula *K*. Observa-se que a diferença entre a curva de crescimento geométrico (*r* constante) e a curva de crescimento populacional logístico (*r* decrescente em função da abundância) apresenta crescimento mais lento quando comparada à curva de crescimento geométrico. Essa diferença representa a resistência do ambiente à expressão plena

do potencial reprodutivo dos indivíduos por meio da competição desses por recursos limitados disponíveis no ambiente (Figura 3B).

A observação da natureza mostra que algumas espécies têm a característica de colonizar e ocupar de forma oportunista ambientes recém-perturbados, como clareiras na mata ou áreas agrícolas recém-cultivadas, onde aumentam rapidamente

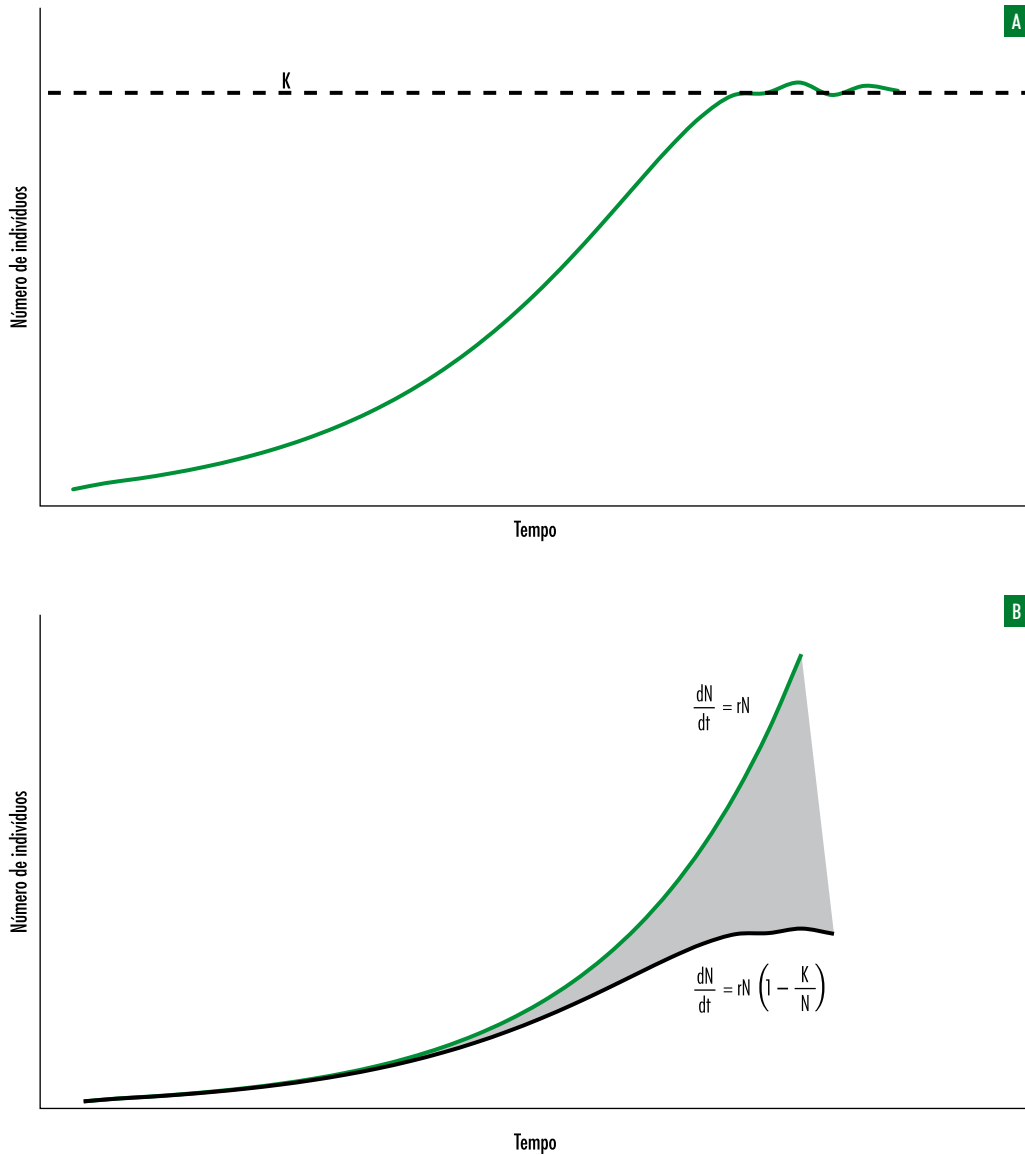


Figura 3. Curvas de crescimento logístico de populações de organismos vivos (N) sujeitas ao efeito da densidade populacional: a curva muda de inclinação ao longo do tempo (t) em função da densidade populacional e da capacidade de suporte do sistema (K) (A); comparação entre a curva de crescimento geométrico (curva superior), sem limitação de recursos, e a curva de crescimento logístico (curva inferior), onde a área hachurada representa a resistência do ambiente ao crescimento populacional (B).

sua população por causa de uma alta taxa de fecundidade (r) e morrem ou deixam o ambiente quando o recurso começa a se exaurir. Os pulgões são um exemplo clássico desse tipo de estratégia, pois colonizam brotações novas de forma rápida através de partenogênese e se dispersam para novos ambientes, produzindo formas aladas, quando a densidade populacional aumenta e o recurso alimentar perde qualidade. Outras espécies possuem taxas de fecundidade mais baixa, mas, em razão de outras características, como o cuidado parental com a prole e a maior longevidade, são capazes de manter suas populações próximas do limite imposto pela capacidade de suporte do sistema (K) e suas populações não estão sujeitas a flutuações bruscas. Existem poucos tipos desses insetos que sejam bem conhecidos, mas, como exemplo desse tipo de estratégia, citam-se os gafanhotos não migratórios, que possuem longevidade e ciclo de vida relativamente longos, protegem seus ovos em ootecas e selecionam locais para colocar seus ovos. Na verdade, poucas espécies podem ser verdadeiramente classificadas como estrategistas r ou K , e essa distinção é apenas didática. Na natureza, observa-se que a maioria das espécies se distribui ao longo desse gradiente entre r e K , e suas populações flutuam por causa de uma combinação de características intrínsecas, como a estratégia reprodutiva, e características extrínsecas do ambiente em que estão inseridas, tal como a interação com outras espécies.

No caso de pragas agrícolas, o aumento da densidade de indivíduos de uma população pode torná-la mais aparente e susceptível ao ataque de seus inimigos naturais, como predadores, parasitoides e patógenos. Esse fato abre a perspectiva de que interações interespecíficas também possam influenciar a dinâmica populacional de artrópodes-praga.

A combinação de forças intrínsecas da população, como a competição intra-específica, e de forças extrínsecas, como as interações interespecíficas, é responsável por limitar o crescimento populacional e impedir que as populações cresçam exponencialmente até a capacidade de suporte do sistema, exaurindo os recursos localmente. Essas relações explicam de forma simples por que é possível perceber uma predominância de vegetação verde e certo equilíbrio entre as populações, quando se observa a natureza ao redor. Assim, será explorada a natureza dessas interações para entender melhor como as populações interagem entre si e formam esse equilíbrio.

Controle e regulação populacional

Os princípios populacionais discutidos até aqui são resultado de interações entre indivíduos da mesma espécie ou interações intraespecíficas. Na natureza, as populações estão imersas em uma rede de interações com outros organismos, além de interações com o ambiente físico que causam mortalidade e controlam as

populações naturais. Dessa forma, se fatores intrínsecos e intraespecíficos, como competição e cooperação, podem alterar o crescimento das populações, fatores extrínsecos e abióticos também são capazes de afetar a abundância populacional. Mudanças sazonais nas condições climáticas, como temperatura, umidade relativa do ar e luminosidade, além de eventos meteorológicos eventuais como seca, chuvas torrenciais e geadas, são capazes de afetar de forma direta as populações, alterando a sobrevivência, a longevidade e a fecundidade. Além disso, podem atuar de forma indireta, modificando a abundância de recursos alimentares e hídricos, impactando também a dinâmica populacional das espécies.

Além disso, fatores bióticos, como outras espécies competidoras e inimigos naturais como predadores, parasitoides e patógenos, são fatores extrínsecos ou inter-específicos de mortalidade capazes de controlar as populações. Se, por um lado, os fatores físicos do ambiente podem matar os indivíduos independentemente de sua densidade, por outro os fatores bióticos como competidores e inimigos naturais podem atuar em algumas situações independentemente da densidade da população, enquanto em outras situações pode haver aumento da mortalidade em resposta à densidade das populações da praga e de seu inimigo natural.

Algumas publicações sobre a dinâmica das populações na década de 1950 iniciaram uma discussão ainda não resolvida entre os ecólogos sobre quais fatores seriam mais importantes no controle de populações na natureza: fatores de mortalidade populacional independentes da densidade, conforme proposto por Andrewartha e Birch (1954), ou fatores dependentes da densidade, de acordo com o proposto por Nicholson (1954).

Essa discussão é de grande interesse para o controle biológico no contexto de sua própria definição. Se o controle biológico é a manutenção da abundância dos indivíduos de uma população por seus inimigos naturais, o fato de esses inimigos naturais serem capazes de responder à abundância de suas presas ou hospedeiros e aumentar sua interação trófica é fundamental para que haja algum grau de sincronismo entre as populações de forma a manter um estado de equilíbrio dinâmico. Essa propriedade pela qual uma população é capaz de manter-se dentro de limites máximos e mínimos em torno de um ponto de equilíbrio é conhecida como regulação populacional. Esse conceito implica, portanto, que o inimigo natural não é

Fator-chave de mortalidade
Fator de mortalidade mais fortemente correlacionado à flutuação de uma população ao longo de várias gerações.

apenas um fator de mortalidade quando em contato com a população da praga, mas é capaz de manter a densidade populacional da praga flutuando em um nível de equilíbrio. Quando a presença ou a introdução da população do inimigo natural reduz a densidade da praga para o nível inferior ao de dano econômico em cultivos, estabelecendo um novo patamar de equilíbrio populacional, e passa a apresentar

flutuação populacional em sincronia com a praga, ocorrerá uma situação “ideal” em que o controle biológico apresentará sua condição de maior sucesso (Figura 4).

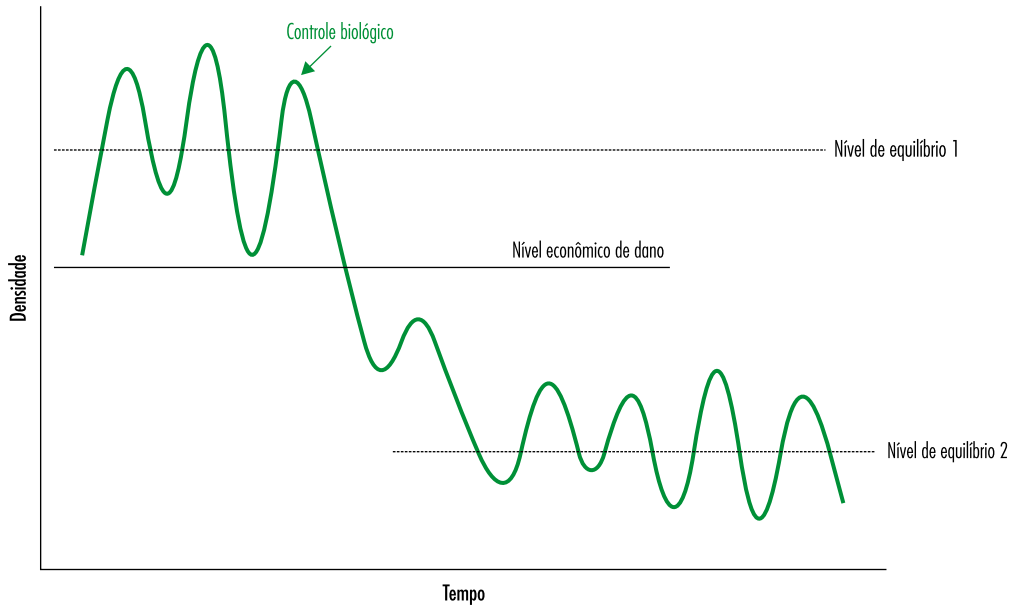


Figura 4. Modelo hipotético de curva populacional que mostra uma situação ideal em programas de controle biológico: a presença ou a introdução da população do inimigo natural reduz a densidade da praga para o nível inferior ao de dano econômico em cultivos, estabelecendo novo patamar de equilíbrio populacional, em sincronia com a praga.

Fonte: Adaptado de Debach e Rosen (1991).

DENSIDADE DA PRESA EM RELAÇÃO A PREDADORES E PARASITOIDES

Este efeito de dependência entre as densidades da praga e seu inimigo natural, por meio da interação trófica e da regulação das populações, está relacionado, segundo Holling (1961), com cinco características principais das espécies envolvidas: 1) densidade da presa; 2) densidade do inimigo natural (predador ou parasitoide); 3) características do ambiente (por exemplo, número e variedade de alimento ou hospedeiro alternativo); 4) características da praga (por exemplo, seus mecanismos de defesa); 5) características do inimigo natural (por exemplo, técnicas de ataque). Duas dessas variáveis, densidade da praga e densidade do inimigo natural, são características fundamentais em qualquer relação trófica e dão origem a dois componentes básicos para avaliar se a interação é dependente das densidades: a resposta numérica e a resposta funcional do predador (Holling, 1961).

A resposta funcional é definida como o número de presas atacadas em função da densidade de presas, e a resposta numérica como o crescimento da população do predador em função da densidade de presas (Solomon, 1949). Juntas, as respostas funcional e numérica delineiam um importante conjunto de adaptações dos predadores ao seu ambiente e são importantes para avaliar o potencial das espécies como agentes de controle biológico natural. A resposta funcional é empregada para avaliar o potencial do inimigo natural em ambientes naturais ou protegidos (laboratório, casas de vegetação) e em diversas situações, como baixa e alta abundância de presas, diferentes condições ambientais, na presença de fonte alimentar alternativa e em diferentes espécies de presas (DeBach; Rosen, 1991).

O tempo necessário para processar a presa capturada, denominado tempo de manipulação, é responsável pelo tipo de resposta funcional observada para os insetos predadores e parasitoides (Holling (1959, 1961)). O tempo disponível para que os predadores ataquem a presa é composto de duas atividades temporais separadas: o tempo de busca que representa a eficiência de procura e o tempo de manipulação da presa que envolve o encontro, a morte e a ingestão.

A taxa de predação em função da densidade de presas pode dar origem a três tipos básicos de curvas de resposta funcional, dependendo das características e dos estágios de vida do predador e da presa e das condições climáticas: resposta do tipo I (crescimento linear); resposta do tipo II (desaceleração); resposta do tipo III (relação sigmoide) (Holling, 1961). Na resposta funcional do tipo I, as presas são consumidas na proporção direta de sua abundância em função da eficiência de captura dos predadores. Nesse modelo, a fecundidade dos predadores é proporcional ao número de presas consumidas e aumenta sem limite na proporção direta da disponibilidade de presas. Na resposta funcional do tipo II, o número de presas consumidas por predador inicialmente cresce rapidamente à medida que a densidade de presas aumenta, mas depois se nivela com acréscimos adicionais na densidade de presas. A resposta funcional do tipo III assemelha-se a do tipo II, porém, em baixas densidades de presas, as taxas de predação são reduzidas (Figura 5) (Ricklefs, 2016).

A abundância das populações de pragas pode, portanto, ser controlada por fatores independentes da densidade, como o efeito do ambiente físico (temperatura, umidade, fotoperíodo e eventos meteorológicos como chuva e geada), ou dependentes de sua densidade, quando interagem com outros indivíduos na forma de competição ou interações tróficas (predação, parasitismo, canibalismo, etc.). Pode-se considerar que, conforme proposto por Price et al. (2011), essas interações atuam de “cima para baixo” (*top-down*) sobre as populações das pragas. Ainda segundo os autores, outro tipo de interação que pode controlar as populações de pragas relaciona-se às interações entre as pragas e seu alimento, em que a qualidade da

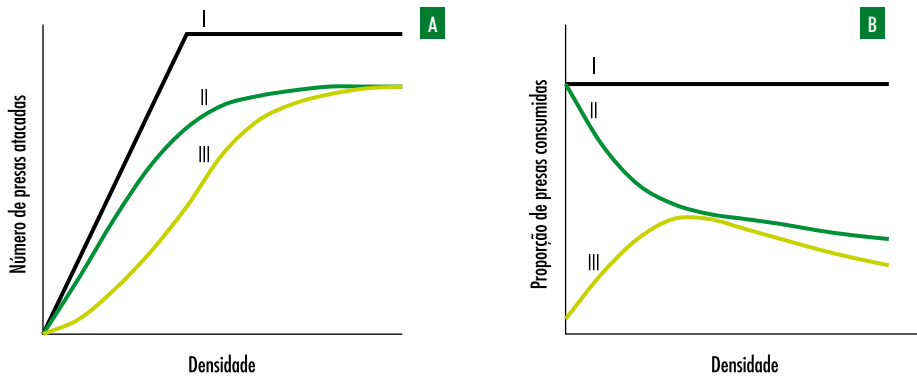


Figura 5. Tipos de resposta funcional de predadores (I – crescimento linear; II – desaceleração; e III – baixa densidade de presas) em relação à densidade de presas, dependendo das características e dos estágios de vida do predador e da presa e das condições climáticas.

composição nutricional e as substâncias químicas de defesa podem ter o efeito de controle populacional nas pragas de “baixo para cima” (*bottom-up*) do ponto de vista energético na cadeia alimentar.

Muitos desses conceitos sobre dinâmica populacional de insetos predadores e parasitoides podem ser úteis também para entender ou explicar as relações ecológicas entre microrganismos patogênicos e seus hospedeiros e a forma com que essas relações afetam o controle biológico. Porém, os microrganismos são um grupo distinto de inimigos naturais que têm características comportamentais e interações tróficas próprias, as quais passam a ser apresentadas a seguir.

CONCEITOS BÁSICOS DAS INTERAÇÕES PATÓGENO-HOSPEDEIRO

Os microrganismos que causam doenças em insetos ou plantas são chamados de entomopatógenos ou fitopatógenos, respectivamente, e são considerados inimigos naturais passíveis de ser usados como agentes de controle biológico de artrópodes-praga e plantas daninhas. Mais recentemente, no contexto agropecuário, microrganismos vêm sendo também adotados no manejo de fungos e bactérias causadores de doenças em plantas cultivadas. No clássico livro *Principles of Insect Pathology* (Steinhaus, 1949), o termo “doença” (em inglês *disease = lack of ease*) já era definido como a alteração do estado normal de saúde, quando o organismo não é mais capaz de desempenhar satisfatoriamente as funções necessárias à sua manutenção, crescimento ou multiplicação.

As doenças podem ter natureza infecciosa ou não infecciosa. Estas últimas apresentam imenso número de causas, como injúrias mecânicas, exposição a substâncias químicas, desordens metabólicas, desidratação e deficiência nutricional. Por sua vez, as doenças infecciosas têm o envolvimento direto de microrganismos vivos que, no caso de pragas agrícolas e florestais, usualmente são bactérias, vírus, microsporídios (até recentemente classificados como protozoários, mas que foram transferidos para o reino Fungi) e fungos clássicos. Os três primeiros ganham acesso ao corpo de invertebrados por via oral, enquanto a maioria dos fungos entomopatogênicos age por contato, penetrando através da cutícula. Alguns autores incluem neste rol os macroscópicos nematoides entomopatogênicos, por manterem relação simbiótica com bactérias que, em última instância, são os agentes responsáveis pela morte do hospedeiro. O termo "infecção" refere-se a uma relação dinâmica em que o patógeno, após superação do sistema imunológico do hospedeiro, desencadeia a doença. É importante salientar que outras relações estabelecidas entre microrganismos e invertebrados/plantas são benéficas, neutras ou, até mesmo, prejudiciais ao hospedeiro, mas que não levam ao estabelecimento de doença. Um caso emblemático são os fungos da classe Laboulbeniomyces, do filo Ascomycota, que são parasitas obrigatórios da superfície externa de artrópodes, principalmente besouros e moscas. Embora a maior parte das espécies seja comensal, em alguns casos o crescimento excessivo de estruturas fúngicas sobre a cutícula das asas ou outras estruturas pode prejudicar a mobilidade do hospedeiro, mas sem a ocorrência de infecção clássica.

Os famosos postulados do microbiologista alemão Robert de Kock (1843-1910) permitiram desvendar imenso número de associações entre hospedeiros e patógenos, com benefícios inestimáveis em políticas públicas para prevenção e controle de doenças, incluindo o desenvolvimento de vacinas. Kock propôs que um patógeno só deve ser considerado como agente causal de doença infecciosa se satisfeitas certas condições, tais como: a presença do microrganismo em toda ocorrência da doença e, após isolado na forma pura, a capacidade de reproduzir os sintomas típicos da enfermidade quando inoculado em organismos saudáveis. Recentemente, técnicas moleculares têm contribuído para diminuir a relevância dos postulados originais de Koch para rapidamente viabilizar avanços na identificação e quantificação de organismos, bem como permitir o melhor entendimento dos mecanismos de ação dos diversos grupos de patógenos.

Patogenicidade e virulência

Em diferentes áreas do conhecimento, alguns termos assumem diferentes interpretações. Neste capítulo, porém, e no restante do livro, será adotada a termino-

logia que foi detalhadamente discutida por Shapiro-Illan et al. (2005) e que tem sido a mais aceita, na qual patogenicidade consiste na habilidade do microrganismo em provocar uma doença, e virulência constitui um atributo quantitativo (mensurável), relacionado ao grau de patogenicidade do microrganismo, indicado para comparações de *strains* ou isolados dentro de um grupo ou espécie. Como tal, uma espécie de microrganismo é ou não patogênica para determinado hospedeiro, enquanto dentro da espécie há representantes com variados graus de virulência. A título de exemplo, a bactéria *Bacillus thuringiensis* é reconhecidamente patogênica para muitos lepidópteros, e isolados que matam 4% e 98% das lagartas tratadas são pouco e altamente virulentos, respectivamente. Os patógenos virulentos desenvolveram surpreendentes adaptações que os capacitam a invadir os hospedeiros saudáveis, colonizando-os rapidamente e levando-os à morte. Um caso ilustrativo refere-se ao fungo *Beauveria bassiana* que, uma vez dentro do corpo do inseto, forma propágulos infectivos que não são reconhecidos pelo sistema imunológico do hospedeiro, facilitando a colonização pelo patógeno. Maior detalhamento sobre tais adaptações e associações específicas a cada grupo de microrganismos fitopatogênicos e entomopatogênicos são apresentados em outros capítulos deste livro dedicados aos agentes microbianos de controle biológico.

Epizootiologia: enzootias e epizootias

De forma simplificada, epizootiologia é a ciência que estuda as doenças infecciosas no âmbito populacional, sendo equivalente ao termo epidemiologia, porém aplicado a animais que não a espécie humana. A dinâmica de uma doença pode assumir padrões bem conhecidos, notadamente as enzootias e epizootias. As enzootias, termo análogo às endemias em humanos, referem-se às doenças que ocorrem quase que permanentemente numa determinada população, porém com baixa prevalência, ou seja, havendo reduzida proporção de hospedeiros infectados num dado momento (Figura 6).

As epizootias, que, até certo ponto, são semelhantes às epidemias em humanos, dizem respeito às doenças de ocorrência eventual, caracterizadas por elevada prevalência do patógeno na população, mas que, diferentemente das epidemias que atualmente assolam a espécie humana, resultam na morte de grande parte dos indivíduos infectados. Epizootias têm sido frequentemente relatadas na natureza, podendo afetar negativamente a dinâmica populacional de pragas agrícolas e florestais (Figura 6). Há inúmeros relatos de epizootias causadas por fungos (incluindo os microsporídios), vírus e bactérias. Conhecimentos de epizootiologia podem ter aplicação prática no manejo de pragas ao prevenir a pulverização desnecessária

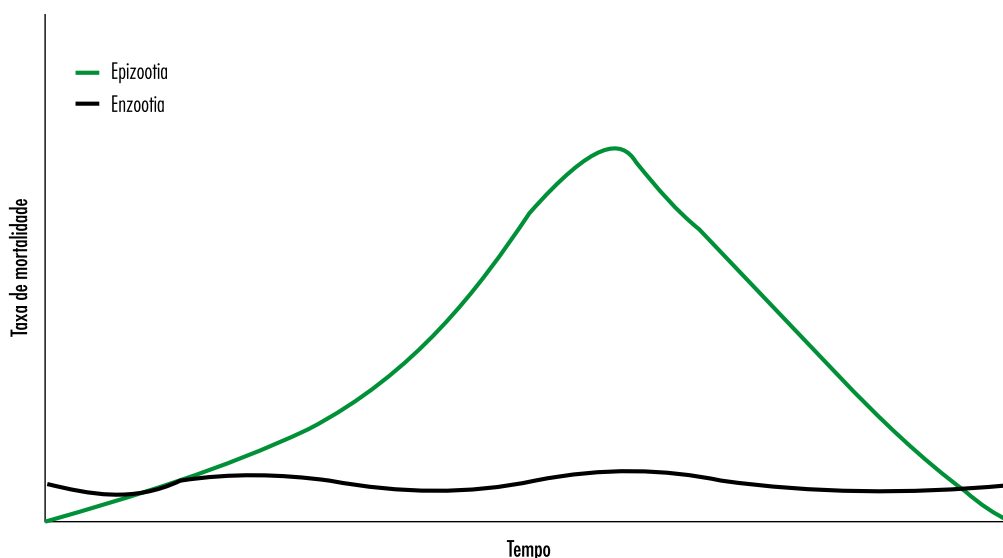


Figura 6. Representação esquemática de epizootia e enzootia causadas por microrganismos em populações de artrópodes.

de agrotóxicos. Um caso consagrado diz respeito à ocorrência natural do fungo *Neozygites fresenii* sobre populações do pulgão *Aphis gossypii* em plantios comerciais de algodão de estados americanos. Pesquisas básicas conduzidas na University of Arkansas (Steinkraus, 2000) resultaram no estabelecimento de um programa de monitoramento da ocorrência de *N. fresenii* nas populações do pulgão, sendo os agricultores orientados a não aplicar inseticidas químicos nas propriedades com prevalência $\geq 15\%$, já que, nesses casos, um abrupto declínio da população da praga se dá em poucos dias. Tal programa, disseminado no meio rural por extensionistas, tem possibilitado economias consideráveis para muitos cotonicultores americanos. Por sua vez, epizootias indesejáveis ocorrem pela incidência de patógenos em criações de organismos de interesse humano (abelhas, bicho-da-seda, invertebrados e plantas mantidos para fins de pesquisa). Nesses casos, não raramente os prejuízos são vultosos, e estudos que possam evitar ou amenizar tais epizootias são relevantes.

As epizootias podem também ser induzidas pelo homem, como, por exemplo, por meio da aplicação de biopesticidas nas lavouras e áreas florestais. Como será visto em vários capítulos deste livro, tem havido em todo o mundo um avanço no controle microbiano de artrópodes, plantas daninhas e microrganismos causadores de doenças em plantas cultivadas. Estudos de ecologia de patógenos de invertebrados e de outras pragas têm sido chave para o uso do controle microbiano em programas de Manejo Integrado de Pragas, bem como para a proteção de organismos benéficos contra doenças infecciosas.

Fatores envolvidos na ocorrência de infecções e incidência de doenças em insetos e plantas

A inter-relação dos fatores envolvidos na ocorrência de infecções foi inicialmente ilustrada pelo triângulo de doenças, proposto em 1960 para explicar a dinâmica de doenças em plantas cultivadas (Figura 7). Ele realça que três condições básicas devem ser concomitantemente satisfeitas para a ocorrência de doenças infecciosas: presença de hospedeiro suscetível, patógeno e condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento da enfermidade. Embora não seja um tema consensual, alguns especialistas consideram o triângulo de doenças uma simplificação, e defendem que outros parâmetros sejam também incluídos, o que resultaria em diferentes formas geométricas. Na Figura 7B, por exemplo, o parâmetro tempo ocupa um dos vértices do poliedro, já que, nesse modelo, o início e a severidade da doença seriam dependentes do período de interação dos fatores considerados no triângulo.

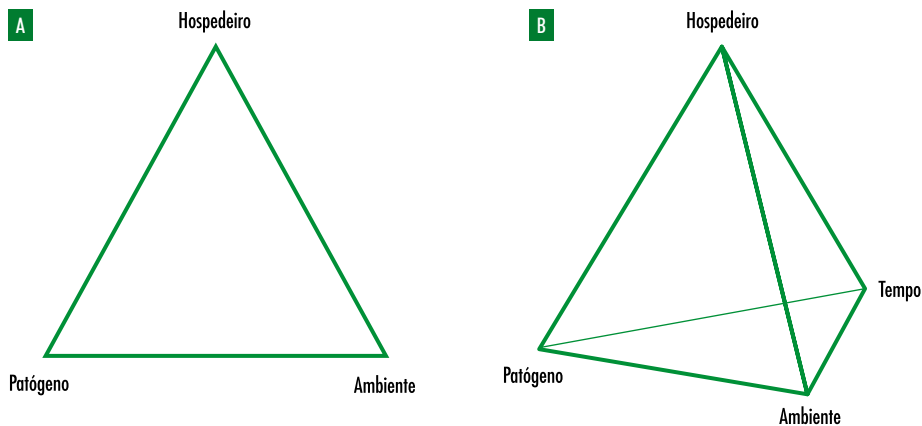


Figura 7. Fatores envolvidos na ocorrência de doença infecciosa, representados pelo famoso triângulo proposto, em 1960, por Stevens (A) e pelo poliedro com o parâmetro adicional “tempo” (B).

Fatores bióticos que interferem na dinâmica da doença

Conforme ilustrado no triângulo de doenças, os fatores bióticos são aqueles relacionados ao hospedeiro e ao patógeno. Com relação ao hospedeiro, pode-se considerar seu grau de suscetibilidade ao patógeno, que, por sua vez, é influenciado pelo estágio de vida e robustez do sistema imunológico. No Brasil, são frequentemente relatadas epizootias causadas pelo fungo *Metarhizium* (= *Nomuraea*) *rileyi* em populações da lagarta-da-soja (*Anticarsia gemmatalis*), embora o estágio adulto não seja atacado pelo patógeno. Da mesma forma que ocorre com os insetos predadores e parasitoides,

a elevada densidade populacional do hospedeiro é outro fator-chave para a disseminação da doença, aumentando não somente as chances de transmissão do patógeno de indivíduos doentes para sadios, mas também a probabilidade de contato com patógenos que se encontram na folhagem ou no solo. Não é à toa que as epizootias frequentemente relatadas para fungos e baculovírus em cultivos agrícolas e florestais estão associadas a elevadas densidades populacionais do hospedeiro.

Alguns patógenos persistem em estágio latente nas populações de hospedeiros suscetíveis, levando à redução da imunidade quando estes enfrentam situações estressantes e, conseqüentemente, à morte generalizada, conforme relatado para baculovírus por Il'inykh (2007). Um possível exemplo de situação estressante é a súbita falta de alimentos causada pelo desfolhamento excessivo das plantas atacadas e pela baixa qualidade nutricional para o hospedeiro, favorecendo a erupção da doença. Os patógenos com elevada virulência são aqueles com maior potencial de causar epizootias, desde que o hospedeiro esteja suscetível e as condições climáticas favoráveis, tanto para a produção como para a dispersão dos seus propágulos. Os patógenos pouco virulentos estão mais associados aos casos de enzootias.

A maioria dos patógenos (fungos, vírus, bactérias) causa infecção por transmissão horizontal, havendo a multiplicação do patógeno no interior do hospedeiro, que é posteriormente liberado no ambiente em grande quantidade para infectar os indivíduos sadios da população. Por sua vez, muitos microsporídios são parasitas obrigatórios e adotam a estratégia de transmissão vertical, já que, por não terem meios de sobreviver no ambiente, causam apenas doenças crônicas que poupam, num primeiro momento, a vida do hospedeiro.

Apesar de o triângulo das doenças focar apenas em dois componentes bióticos, a verdade é que, no caso dos patógenos de insetos, as plantas, sobre as quais muitas vezes se desenrolam as relações hospedeiro-patógeno, podem desempenhar papel relevante. As plantas estão envolvidas, por exemplo, na manutenção de patógenos durante períodos de ausência ou baixa densidade populacional do hospedeiro, e podem interferir na robustez dos insetos em função de sua qualidade nutritiva. Esse caso demonstra claramente que a discussão isolada de cada fator tem importância meramente didática no estudo da dinâmica populacional de doenças.

Fatores abióticos que interferem na dinâmica da doença

Os fatores abióticos são aqueles relacionados ao ambiente e, no caso de organismos terrestres, normalmente dizem respeito à temperatura, à umidade relativa e à radiação ultravioleta (UV). Condições como temperaturas extremas e elevada ra-

dição UV, por exemplo, estão normalmente associadas com intensa inativação dos patógenos comuns na região foliar, como esporos de fungos ou corpos de oclusão de vírus. Por sua vez, epizootias causadas pelo fungo *M. rileyi* sobre a lagarta-da-soja são favorecidas por elevada umidade relativa do ar e precipitação (Sujii et al., 2002), enquanto temperatura amena foi relatada como importante fator na ocorrência de epizootias viróticas sobre larvas do lepidóptero *Archips argyrospila* (Goyer et al., 2001). Epizootias causadas por vírus têm sido relatadas em inúmeros países, estando sua ocorrência via de regra associada a elevadas densidades populacionais de hospedeiros que, por sua vez, são bastante influenciadas por fatores climáticos. Embora os estudos com organismos habitantes do solo sejam escassos, fatores como temperatura e teor de água têm marcante impacto na ocorrência de doenças nesse ambiente. Em estudo conduzido no Brasil, por exemplo, demonstrou-se que a ocorrência do fungo *Ophiocordyceps myrmicarum* sobre o percevejo-castanho, *Scaptocoris castanea* (Perty), está correlacionada à elevada umidade do solo durante os meses chuvosos, o que contribui para aumento da densidade populacional do hospedeiro e consequente estabelecimento de enzootias (Torres et al., 2018).

Os fatores abióticos têm ação distinta sobre os diferentes grupos de patógenos. Esporos de bactérias do gênero *Paenibacillus*, famosos por iniciarem infecções em larvas de besouros da família Scarabaeidae após ingeridos, são bastante resistentes e pouco sensíveis aos fatores ambientais prevalentes no solo. Ainda, é relativamente menor o efeito direto dos fatores ambientais sobre os patógenos obrigatórios, abrigados no interior de hospedeiros, muito embora o efeito de tais fatores sobre seus hospedeiros possa afetar sua reprodução ou sobrevivência.

Todas essas interações atuam de forma simultânea e interferem na dinâmica populacional das espécies, e a compreensão do papel do controle biológico nesse processo é fundamental para que possa ser usado de forma adequada no controle de pragas, seja por equilíbrio dinâmico das populações de hospedeiros e inimigos naturais na natureza, seja por manejo ou aplicação de agentes de controle biológico para o controle de pragas.

As interações ecológicas descritas ao longo deste capítulo mostram como a teoria ecológica fundamenta o entendimento dos diferentes mecanismos que regulam o controle natural de populações na natureza, sendo essa compreensão fundamental para o uso bem-sucedido e seguro do controle biológico. Ao mesmo tempo, a aplicação do controle biológico pelo homem tem servido como modelo de estudo ao mostrar os riscos de impacto ambiental associados à introdução de organismos exóticos em novos ambientes e tem subsidiado o avanço do desenvolvimento da teoria ecológica para além dos modelos iniciais de predador/presa (Kareiva, 1996).

REFERÊNCIAS

- ALLEE, W. C. **Animal aggregations: a study in general sociology**. Chicago: The University of Chicago, 1932.
- ANDREWARTHA, H. G.; BIRCH, L. C. **The distribution and abundance of animals**. Chicago: University of Chicago, 1954. 782 p.
- ANDREWARTHA, H. G.; BIRCH, L. C. **The ecological web: more on the distribution and abundance of animals**. Chicago: University of Chicago, 1984.
- BERRYMAN, A. On principles, laws and theory in population ecology. **Oikos**, v. 103, p. 695-701, Oct. 2003. DOI: 10.1034/j.1600-0706.2003.12810.x
- DEBACH, P.; ROSEN, D. **Biological control by natural enemies**. 2. ed. Cambridge: Cambridge University, 1991. 386 p.
- GOYER, R. A.; WEI, H. X.; FUXA, J. R. Prevalence of viral diseases of the fruittree leafroller, *Archips argyrospira* (Walker) (Lepidoptera: Tortricidae), in Louisiana. **Journal of Entomological Science**, v. 36, n. 1, p. 17-22, 2001. DOI: 10.18474/0749-8004-36.1.17.
- HASSEL, M. P. **The dynamics of arthropod predator-prey systems**. Princeton: Princeton University, 1978. 235 p.
- HOLLING, C. S. Principles of insect predation. **Annual Review of Entomology**, v. 6, p. 163-182, 1961.
- HOLLING, C. S. Some characteristics of simple types of predation and parasitism. **Canadian Entomologist**, v. 91, p. 385-398, July 1959. DOI: 10.4039/Ent91385-7.
- IL'INYKH, A. V. Epizootiology of Baculoviruses. **Biology Bulletin**, v. 34, n. 5, p. 524-533, 2007.
- KAREIVA, P. Special feature: contributions of ecology to biological control. **Ecology**, v. 77, p. 1963-1964, 1996.
- NICHOLSON, A. J. An outline of the dynamics of animal populations. **Australian Journal of Zoology**, v. 2, p. 9-65, 1954.
- PRICE, P. W.; DENNO, R. F.; EUBANKS, M. D.; FINKE, D. L.; KAPLAN, I. **Insect ecology: behavior, populations and communities**. Cambridge: Cambridge University, 2011. 884 p.
- RICKLEFS, R. E. **A economia da natureza**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Kogan, 2016. 546 p.
- SHAPIRO-ILLAN, D. I.; FUXA, J. R.; LACEY, L. A.; ONSTAD, D. W.; KAYA, H. K. Definitions of pathogenicity and virulence in invertebrate pathology. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 88, p. 1-7, 2005.
- SOLOMON, M. E. The natural control of animal populations. **Journal of Animal Ecology**, v. 18, n. 1, p. 1-35, May 1949.
- STEINKRAUS, D. C. Documentation of naturally-occurring pathogens and their impact in agroecosystems. In: LACEY, L. A.; KAYA, H. K. (Ed.). **Field manual of techniques in invertebrate pathology: application and evaluation of pathogens for control of insects and other invertebrate pests**. Dordrecht: Kluwer, 2000. p. 303-320.
- STEINHAUS, E. A. **Principles of insect pathology**. New York: McGraw-Hill, 1949. 757 p.
- SUJII, E. R.; CARVALHO, V. A.; TIGANO, M. S. Cinética da esporulação e viabilidade de conídios de *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson sobre cadáveres da lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), em condições de campo. **Neotropical Entomology**, v. 31, p. 85-90, Jan.-Mar. 2002.
- TORRES, F. Z. V.; SOUZA, D. A.; LIRA, E. C.; FARIA, M.; SUJII, E.; LOPES, R. B. Occurrence of the anamorphic stage of *Ophiocordyceps myrmicarum* on a non-Formicidae insect in integrated crop-livestock farming systems. **Fungal Ecology**, v. 34, p. 83-90, Aug. 2018. DOI: 10.1016/j.funeco.2018.05.009.

PARTE 2

CONTROLE DE ARTRÓPODES-PRAGA

CAPÍTULO 3

Controle de artrópodes-praga com parasitoides

Raúl Alberto Laumann
Marcus Vinicius Sampaio

Entre todas as formas de vida animal, os insetos parasitoides têm despertado interesse e admiração dos zoólogos desde tempos remotos. Relatos acerca desse tipo particular de forma de vida, ainda sem total compreensão do fenômeno, aparecem na *Historia animalium* (380–322 a.C.) de Aristóteles, o qual fez um relato do ataque de uma vespa Ichneumonidae a aranhas (Van Lenteren; Godfray, 2005). Já Lu Dian (1042-1102), segundo Cai e Yan (2005), assim descreve o parasitismo por Tachinidae: “uma mosca deposita seus ovos no corpo do bicho-da-seda, as larvas, *xiang zi*, emergem quando o bicho-da-seda está formando os casulos e vão para o solo para tornar-se moscas”. Embora esses relatos detalhem alguns aspectos do modo de vida dos parasitoides, a primeira descrição completa e com compreensão integral do ciclo vital de um parasitoide foi feita por Swammerdam e Marsilius (1738) no livro *The Book of Nature*, citado por Van Lenteren e Godfray (2005). Quem primeiro utilizou o termo “parasitoide” foi Reuter (1913 citado por Godfray, 1994) para identificar os insetos com forma de vida intermediária entre parasitas e predadores, segundo ele mesmo descreve. Antes dessa definição, os entomologistas se referiam a eles como insetos parasitas.

Entre as múltiplas definições de parasitoides, será utilizada aqui a seguinte: os insetos parasitoides são aqueles que vivem como parasitas durante a fase de desenvolvimento larval, sendo os adultos de vida livre. As larvas vivem associadas aos hospedeiros externamente ou internamente consumindo seus tecidos e nutrientes. Para completar seu ciclo vital, cada parasitoide utiliza um único hospedeiro, o qual, como resultado do processo, morre (Eggleton; Gaston, 1990; Godfray, 1994). Neste capítulo, a palavra “parasitismo” será usada para descrever os processos de ataque (oviposição) e exploração do hospedeiro pelas larvas dos parasitoides. Alguns

autores preferem utilizar o termo “parasitoidismo” para diferenciá-lo do parasitismo exercido por parasitas. Mas, considerando que, durante essa etapa do ciclo vital, o parasitoide desenvolve um modo de vida tipicamente parasita, preferiu-se usar um termo mais familiar e amplamente adotado na literatura de insetos parasitoides.

Fica evidente que o modo de vida parasitoide não corresponde ao dos predadores nem ao dos parasitas. Os predadores, que também matam suas presas, utilizam mais de uma delas para completar o seu desenvolvimento e, em geral, tanto os imaturos quanto os adultos se alimentam da mesma forma. Por sua vez, os parasitas, que podem utilizar um ou mais hospedeiros, em geral não os matam e podem atacá-los durante diferentes fases do ciclo de vida. Embora a definição de parasitoide aqui apresentada seja a mais usualmente utilizada, alguns autores têm proposto alternativas ou expansão do seu uso para insetos com outra forma de vida. Da mesma maneira, os termos cleptoparasita e hiperparasitoide podem ser utilizados com sentido diferente. Algumas vezes são incluídos numa definição geral de parasitoides e, em outras, são considerados como estilos de vida diferenciados. As principais definições relativas ao modo de vida parasitoide encontram-se listadas a seguir:

Cleptoparasita – Utiliza-se este termo para organismos que exploram competitivamente recursos utilizados por outros organismos. Nesta definição, incluem-se um grande espectro de animais, desde cnidários até vertebrados. No caso dos insetos, utiliza-se o termo para parasitoides que utilizam recursos de hospedeiros previamente parasitados. Encontram-se exemplos de cleptoparasitas entre Diptera (ex.: Phoridae, Milichiidae, Chloropidae, Sphaeroceridae) e Hymenoptera – abelhas e vespas parasitoides (ex.: Chrysididae).

Hiperparasitoide – É um parasitoide que parasita outros parasitoides. Ocorre após parasitismo de um hospedeiro previamente parasitado. Neste caso, o parasitismo pode ser obrigatório (hiperparasitoides específicos de insetos parasitoides) ou facultativo (nos casos em que o hiperparasitoide possa se desenvolver em um maior espectro de hospedeiros, atuando como hiperparasitoide somente quando realiza a oviposição em hospedeiros previamente parasitados). Também, há os verdadeiros (parasitam as larvas de outros parasitoides dentro do hospedeiro) e os de pupas (espécies que parasitam pupas de parasitoides, mas que pertencem a grupos que parasitam pupas de diversos outros insetos). Encontram-se exemplos de hiperparasitoides nas maiores superfamílias de Hymenoptera parasitoides (Ichneumonidea, Chalcidoidea, Cynipoidea, Trigonalidae, Proctotrupoidea, Ceraphronoidea) e também em Diptera (Bombyliidae e Conopidae) e Coleoptera (Ripiphoridae e Cleridae).

Parasitoides heterônomo – Caso em que machos e fêmeas se desenvolvem em hospedeiros diferentes. Típico da família Aphelinidae (Hymenoptera; Chalcidoidea),

na qual fêmeas se desenvolvem em cochonilhas (Pseudococcidae ou Coccoidea) ou moscas-brancas (Aleyrodidae), enquanto machos utilizam hospedeiros variados. Um caso específico é o de alguns Aphelinidae, nos quais o macho se desenvolve no mesmo tipo de hospedeiro da fêmea, mas como ectoparasitoide (fora do corpo do hospedeiro), enquanto a fêmea se desenvolve como endoparasitoide (dentro do corpo do hospedeiro) (parasitoide dífago).

Adelfoparasitoides ou hiperparasitoides heterônomo – É um caso especial de hiperparasitismo no qual os machos da espécie se desenvolvem como hiperparasitoides das fêmeas da própria espécie ou de outros parasitoides que atacam o mesmo hospedeiro. Uma das espécies com essa forma de vida é *Coccophagus scutellari* (Dalman) (Aphelinidae), parasita de cochonilhas, um eficiente agente de controle biológico desses insetos.

CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS E ECOLÓGICAS

O ciclo vital característico de um parasitoide tem como ponto de partida o início da busca por hospedeiros pelas fêmeas. Em alguns casos, a oviposição é feita no ambiente, e as larvas do primeiro instar procuram ativamente os hospedeiros (ver detalhes abaixo). A oviposição pode ser externa, com ovos depositados no tegumento do hospedeiro, ou interna, geralmente observada em himenópteros, que utilizam seu ovipositor para colocar os ovos junto com alguns componentes que facilitam o parasitismo, como venenos, vírus ou células nutricionais (teratócitos). Posteriormente, o desenvolvimento dos estágios imaturos do parasitoide se completa dentro do corpo do hospedeiro (endoparasitoides) ou externamente (ectoparasitoides), com as larvas aderidas ao tegumento do hospedeiro, alimentando-se desde o exterior (Figura 1). Existem ainda casos em que a oviposição é interna e a larva, após um período de desenvolvimento interno, desenvolve-se como ectoparasita (endoectoparasitoide) e vice-versa (ectoendoparasitoide). Um caso típico de endoectoparasitoide é relatado na família Dryinidae, na qual as larvas, na fase externa do parasitismo, formam uma membrana em forma de saco (chamada de *thylacium*) para proteção.

Claramente, os endoparasitoides se beneficiam do desenvolvimento no interior do corpo do hospedeiro ao permanecerem em um ambiente estável e homogêneo, protegidos de mudanças ambientais e com menor risco de predação. Por sua vez, os ectoparasitoides estão diretamente expostos a fatores ambientais, mas ficam parcialmente isolados dos mecanismos de defesa do hospedeiro. Por essas características em geral, é mais comum encontrar ectoparasitoides atacando hospedeiros em condições

Fotos: Raul Alberto Loumann (A e D); Marcus Vinícius Sampaio (B e E); Luis Cláudio Paterno Silveira (C).



Figura 1. *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae), endoparasitoide idiobionte que parasita ovos de Lepidoptera (A); *Diaeretiella rapae* (McIntosh, 1855) (Hymenoptera: Braconidae) — endoparasitoide de pulgões (Hemiptera: Aphididae) (B); *Cotesia* sp. (Hymenoptera: Braconidae) — ectoparasitoide cenobionte de larvas de Lepidoptera (C); *Hexacladia smithii* (Hymenoptera: Encyrtidae) — endoparasitoide idiobionte de adultos de percevejos (Hemiptera: Pentatomidae) [fêmea do parasitoide (D1), macho do percevejo marrom, *Euschistus heros* (Fabricius, 1798), com larvas de *H. smithii* no abdome (D2), orifício de saída no abdome do hospedeiro onde emergiram os adultos (D3), com um indivíduo emergindo (D4), indicados por setas]; e larva do endoparasitoide *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson, 1880) (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) em desenvolvimento no pulgão *Aphis gossypii* Glöwer, 1877 (Hemiptera: Aphididae) [larva no interior do corpo do hospedeiro (E1), larva extraída do hospedeiro, com seta indicando a presença de teratócitos no extremo caudal da larva (E2)].

crípticas, tais como aqueles insetos que vivem em galerias em madeira, frutos, sementes, entre outros habitat onde encontram condições ambientais mais estáveis.

As fêmeas dos parasitoides podem alocar um único ovo ou um conjunto de ovos em cada hospedeiro, assim os estágios imaturos podem se desenvolver como solitários ou gregários. Os parasitoides solitários evitam a competição por recursos e podem explorar hospedeiros de tamanho pequeno, enquanto os gregários se beneficiam do ataque massivo, reduzindo a defesa do hospedeiro. Outra vantagem do desenvolvimento gregário é o fato de os machos e as fêmeas se desenvolverem conjuntamente. Isso permite que, após a emergência, as fêmeas sejam fecundadas pelos seus irmãos e assim iniciem rapidamente a busca por hospedeiros. O parasitismo gregário deve ser diferenciado do multiparasitismo, que acontece quando um hospedeiro é parasitado por mais de uma espécie de parasitoide, e do super-

parasitismo, que ocorre quando a fêmea do parasitoide realiza a oviposição em um hospedeiro já parasitado por ela mesma (autossuperparasitismo) ou por outra fêmea da mesma espécie (superparasitismo coespecífico). Quando os parasitoides solitários se encontram em situação de superparasitismo, apenas um indivíduo se desenvolve e ocorre a morte dos outros parasitoides imaturos por competição. No caso dos parasitoides gregários, a sobrevivência depende da capacidade de suporte do hospedeiro, podendo ocorrer a redução da viabilidade, do tamanho, da longevidade e da fecundidade desses parasitoides. Normalmente, hospedeiros maiores suportam o desenvolvimento de um maior número de parasitoides gregários sem que ocorram alterações deletérias a esses parasitoides. Tanto no multiparasitismo quanto no superparasitismo, os indivíduos competem intensamente pelos recursos. Já no caso do parasitismo gregário, a fêmea geralmente avalia, por meio de características fisioquímicas do hospedeiro, sua qualidade e disponibilidade de recursos para decidir o número de ovos que irá depositar.

Em alguns grupos de parasitoides, o desenvolvimento de múltiplos indivíduos em um único hospedeiro pode se dar pela poliembriônia. Esse fenômeno acontece quando, durante o desenvolvimento embrionário, um ovo se multiplica e forma vários embriões idênticos geneticamente (clones). Esse conjunto de embriões é chamado de polimórula (Segoli et al., 2010). Cada embrião da polimórula desenvolve um indivíduo, larva reprodutiva (Strand, 2003; Segoli et al., 2010). Assim um embrião poliembriônico pode gerar até 3 mil descendentes a partir de um único ovo. Esse fenômeno evoluiu independentemente em quatro famílias de himenópteros parasitoides: Platygasteridae, Braconidae, Dryinidae e Encyrtidae (Strand, 2003). O grau mais avançado da poliembriônia parece ter sido atingido nos Encyrtidae. Os membros poliembriônicos dessa família, que parasitam lagartas de Lepidoptera, apresentam uma divisão dos embriões da polimórula. Alguns desses embriões desenvolvem antecipadamente em larvas precoces, morfologicamente diferentes das larvas reprodutivas. As larvas precoces funcionam como soldados e defendem as larvas reprodutivas de competidores (Strand, 2003).

Dois estratégias principais evoluíram em relação à sincronização do desenvolvimento do parasitoide e do hospedeiro: a idiobiose e a cenobiose. Os parasitoides idiobiontes são aqueles que, após o parasitismo, interrompem o desenvolvimento do hospedeiro ocasionando sua morte de forma rápida ou mantendo-o vivo, mas paralisado. Os hospedeiros paralisados têm sua mobilidade reduzida ou inibida pela injeção de venenos neurotóxicos pelas fêmeas do parasitoide no ato da oviposição. Em contraste, os parasitoides cenobiontes são aqueles que permitem que o hospedeiro continue seu desenvolvimento, mudando de instar e estágio e, conseqüentemente, aumentando de tamanho (Askew; Shaw, 1986; Godfray, 1994). Dessa forma,

os cenobiontes podem parasitar um estágio do ciclo vital do hospedeiro e emergir em outro estágio. Essa estratégia requer maior sincronização entre o desenvolvimento do hospedeiro e do parasitoide, mas permite ao parasitoide ter acesso a recursos menos limitados, embora isso requiera adaptações específicas para as mudanças fisiológicas e morfológicas durante o desenvolvimento do hospedeiro. Ao contrário, para os parasitoides idiobiontes, a disponibilidade de recursos é fixa e determinada no momento da oviposição. Essas características condicionam o espectro de hospedeiros dos parasitoides idiobiontes, que, em geral, parasitam larvas nos últimos instares de desenvolvimento, aproveitando seu tamanho maior e sua mortalidade reduzida. Os parasitoides cenobiontes, por sua vez, ao se desenvolverem dentro do corpo dos hospedeiros podem atacar estágios iniciais, de mobilidade maior, e se beneficiam dos recursos produzidos durante o desenvolvimento do hospedeiro.

As estratégias de idiobiose e cenobiose estão relacionadas evolutivamente com outros aspectos do modo de vida dos parasitoides. Um resumo dessas características é apresentado na Tabela 1.

CLASSIFICAÇÃO TAXONÔMICA E DIVERSIDADE

O modo de vida parasitoide evoluiu independentemente em, ao menos, seis ordens de insetos, e o número de espécies corresponde a aproximadamente 10% de todos os insetos descritos (Egerton; Belshaw, 1992) (Tabela 2). São conhecidos exemplos de parasitoides nas ordens Hymenoptera, Diptera, Coleoptera, Strepsiptera, Lepidoptera e Neuroptera, aqui organizados segundo a ordem de importância e diversidade de espécies. Na Tabela 2, apresenta-se um resumo da diversidade e das principais características biológicas dos parasitoides. A ordem com maior diversidade é Hymenoptera, que inclui aproximadamente 75% de todas as espécies de parasitoides descritas (Belshaw et al., 2003). Os parasitoides podem atacar mais comumente outros insetos, mas existem registros de parasitismo em outros artrópodes (aranhas, centopeias e crustáceos). Os dípteros apresentam o maior espectro de hospedeiros, sendo registrados em insetos, artrópodes diversos, platelmintos e vertebrados (Anura) (Egerton; Belshaw, 1992) (Tabela 2).

Outro fato que evidencia a vantagem adaptativa dos parasitoides é que esse tipo de vida surgiu ao menos 22 vezes nos insetos da ordem Diptera, 11 vezes na ordem Coleoptera e, embora considerado monofilético nos Hymenoptera, o fato já destacado da grande radiação adaptativa com mais de 50 famílias de vespas parasitoides indica o sucesso desse grupo de insetos (Egerton; Belshaw, 1992; Grimaldi; Engel, 2005).

Tabela 1. Principais diferenças de características entre parasitoides idiobiontes e cenobiontes⁽¹⁾.

Característica	Idiobionte	Cenobionte
Habitat do hospedeiro	Em condições crípticas ou em locais semicultos (galerias, minas, galhas, serapilheira ou solo)	Majoria exposta nas plantas
Local de parasitismo	Externo	Interno
Paralisação do hospedeiro	Permanente	Temporária ou inexistente
Desenvolvimento do hospedeiro	Interrompido	Contínuo
Estágios atacados	Ovos, larvas, pupas, adulto	Ovo-larva, larva-larva, larva-pupa, larva-adulto
Especificidade	Menos específicos, muitos generalistas no que se refere à família ou ao gênero	Mais específicos
Tamanho do hospedeiro	Maior que o parasitoide adulto	Em muitos casos, menor que o parasitoide adulto
Alimentação do adulto	Hospedeiro e fontes alternativas (néctar, pólen)	Fontes alternativas (néctar, pólen)
Longevidade do adulto	Mais longevos	Menos longevos
Venenos	Na maioria	Em alguns casos
Presença de teratócitos e vírus de poli-DNA	Raramente	Normalmente
Índice ovigênico	Sinovigênicos	Pré-ovigênicos ou com índices ovigênicos altos
Tipo de ovo	Hidrópicos (ricos em vitelo)	Não hidrópicos (pobres em vitelo)
Fecundidade	Baixa	Alta
Distribuição de sexos	Ovos que originam machos em hospedeiros menores	Não dependente do tamanho do hospedeiro
Dimorfismo sexual	Com dimorfismo sexual. Fêmeas de maior tamanho	Sem dimorfismo sexual

⁽¹⁾ As diferenças consideram os extremos nas características, no entanto podem ser encontradas situações intermediárias em diferentes casos como ectoparasitoides cenobiontes.

Fonte: Adaptado de Godfray (1994), Pennacchio e Strand (2006) e Quicke (2015).

Como revela a Tabela 2, o espectro de hospedeiros dos parasitoides é amplo, pois podem utilizar como hospedeiros insetos de todas as ordens conhecidas. Todos os estágios do ciclo vital dos insetos podem ser parasitados, desde ovos até adultos. Os parasitoides idiobiontes geralmente parasitam ovos, pupas ou adultos, mas também podem parasitar larvas de insetos com metamorfose completa (holometábolos) dos últimos instares de insetos com metamorfose completa (holometábolos). Por sua vez, os parasitoides cenobiontes podem parasitar todos os estágios do ciclo vital

Tabela 2. Ordens e famílias de insetos parasitoides com maior representatividade, em relação ao número de espécies, distribuição geográfica, características biológicas e relevância para o controle biológico⁽¹⁾.

Família	Número de espécies	Forma de vida	Hospedeiro	Uso em controle biológico
			Ordem Hymenoptera	
Orussidae	70	Ectoparasitoides idiobiontes	Larvas de Coleoptera (Buprestidae, Cerambycidae) e Hymenoptera (Xiphydriidae e Siricidae) brocadoras de madeira	
Stephanidae	100 ⁽²⁾	Ectoparasitoides idiobiontes	Larvas de Coleoptera brocadoras de madeira	<i>Schlettererius cinctipes</i> (Cresson) introduzida na Tasmânia para controle de um Siricidae em plantações de pinho
Trigonaliidae	90	Sem parasitismo direto. Ovo ingerido pelo hospedeiro primário. Posteriormente vivem como hiperparasitoides	Atacam inicialmente larvas de Lepidoptera e posteriormente os parasitoides dessas larvas, principalmente Hymenoptera e Tachinidae (Diptera)	
Megalyridae	45 ⁽³⁾	Endoparasitoides	Larvas de coleóptera que vivem em galerias sob a casca dos troncos de árvores	
Aulacidae	200	Endoparasitoides solitários	Larvas de Coleoptera e Hymenoptera (Xiphydriidae) brocadoras de madeira	
Evanidae	400 ⁽²⁾	Parasitoides solitários de ootecas alimentando-se dos ovos. Considerados predadores por alguns autores	Ootecas de baratas (Blattodea)	Algumas espécies consideradas para controle biológico de baratas. Sem aplicação prática
Gasteruptiidae	500 ⁽²⁾	Ectoparasitoides solitários. Alguns autores os consideram predadores inquilinos	Larvas de abelhas e vespas	

Continua...

Tabela 2. Continuação.

Família	Número de espécies	Forma de vida	Hospedeiro	Uso em controle biológico
Ceraphronidae	360	Endoparasitoides	Larvas de Diptera (Cecidomyiidae), Thysanoptera, Lepidoptera, Neuroptera e pupas de Diptera. Algumas espécies parasitoides de larva-pupa de Lepidoptera	
Megaspilidae	450	Ectoparasitoides. Algumas espécies podem ser hiperparasitoides	Parasitoides de Coccoidea, Neuroptera e pupas de Diptera. Hiperparasitoides de Aphidiinae (Braconidae) que parasitam pulgões	
Proctotrupidae	310	Endoparasitoides cenobiontes de larva-pupa. Algumas espécies são gregárias	Larvas de coleóptera que habitam solo, serapilheira e madeira em decomposição. Larvas de Mycetophilidae (Diptera)	
Diapriidae	2.300	Endoparasitoides cenobiontes. Muitos são gregários	Larvas e pupas de Diptera	
Platygastridae	5.000	Parasitoides cenobiontes ou idiobiontes. Majoritaria-mente solitários. Algumas espécies poliembrionicas. Algumas espécies são foréticas	Parasitoides de ovo-pré-pupa/pupa (cenobiontes) em insetos que formam galhas (Cecidomyiidae) Parasitoides de ovos (Coleoptera e Hemiptera), de cochonilhas (Coccoidea) ou moscas-brancas (Aleyrodidae) (idiobiontes). Algumas espécies de Scelioninae parasitam ovos de aranhas	Algumas espécies de Scelioninae, particularmente de <i>Trissolcus</i> Ashmead, <i>Telenomus</i> Haliday e <i>Scelio</i> Latreille, têm sido utilizadas para controle biológico No Brasil, <i>Trissolcus basalis</i> (Wollaston) foi utilizado com sucesso para manejo de <i>Nezara viridula</i> (L.) com liberações inoculativas sazonais. O potencial de espécies de <i>Telenomus</i> Haliday também foi comprovado em vários trabalhos em diversas culturas
Figitidae	1.400	Endoparasitoides cenobiontes, solitários	Larvas de Hemerobiidae e Chrysopidae (Neuroptera). Larvas e pupários de Diptera. Hiperparasitoides em Braconidae e Chalcidoidea que atacam Hemiptera	Algumas espécies de Eucolliinae que parasitam Agromyzidae, Chloropidae e Anthomyiidae (Diptera) são consideradas agentes de controle biológico

Continua...

Tabela 2. Continuação.

Família	Número de espécies	Forma de vida	Hospedeiro	Uso em controle biológico
Aphelinidae	1.200	Endoparasitoides ou ectoparasitoides. Alguns são hiperparasitoides, algumas espécies são parasitoides heterônomo	Várias famílias de Hemiptera Sternorrhyncha (Aleyrodidae, Aphidoidea, Psylloidea e Coccoidea) e Auchenorrhyncha. Algumas espécies são parasitoides de ovos de Lepidoptera e Orthoptera e larvas e pupas de Diptera	Uma das principais famílias de Chalcidoidea em relação ao controle biológico, principalmente espécies de <i>Aphelinus</i> Dalman, <i>Aphytis</i> Howard e <i>Encarsia</i> Förster para controle de moscas-brancas, afídeos e psilídeos
Chalcididae	1.800	Endoparasitoides solitários, algumas espécies são hiperparasitoides Alguas espécies ectoparasitoides e algumas gregárias	Larvas e pupas de Lepidoptera. Larvas de Diptera. Algumas espécies foram registradas em Hymenoptera e Coleoptera	
Encyrtidae	3.800	Endoparasitoides e algumas espécies hiperparasitoides. Poliembriônicos (Copidosomatini)	Imaturo e adultos de Coccoidea. Podem parasitar ovos-larvas de um amplo espectro de hospedeiros como Coleoptera, Diptera, Lepidoptera, Hymenoptera, Neuroptera, Orthoptera, Hemiptera e Arachnida	Várias espécies incluídas em programas de controle biológico clássico. Principalmente de cochonilhas e como parasitoides de ovos. No Brasil, <i>Agonaspis citricola</i> Logvinovskaya foi introduzido em SP para controle do minador-dos-citros, <i>Phyllocnistis citrella</i> Stainton (Lepidoptera; Gracillariidae), e <i>Acerophagus coccoides</i> Smith, <i>Aenasius vexans</i> Kerrich e <i>Anagyrus</i> (= <i>Apoanagyrus</i>) <i>divisicornis</i> (Howard) foram introduzidas no Nordeste para controle da cochonilha-da-mandioca, <i>Phenacoccus herreni</i> Cox & Williams

Continua...

Tabela 2. Continuação.

Família	Número de espécies	Forma de vida	Hospedeiro	Uso em controle biológico
Eucharitidae	380 ⁽⁴⁾	As fêmeas depositam os ovos nos tecidos das plantas, e as larvas (planidium) procuram ativamente os hospedeiros (formigas)	Parasitam larvas-pupas de formigas alimentando-se externamente ou internamente	Algumas espécies foram avaliadas para o controle de formigas nos EUA
Eulophidae	4.000	Ectoparasitoides idiobiontes. Endoparasitoides cenobiontes. Existem registros de espécies fitófagas. Algumas espécies são gregárias (ex.: <i>Elasmus</i> spp.)	Larvas que vivem em condições crípticas, especialmente minadoras de folhas das ordens Lepidoptera, Diptera, Hymenoptera e Coleoptera	Algumas espécies utilizadas em programas de controle biológico de Lepidoptera e Diptera. Gêneros importantes como <i>Pediobius</i> Walker e <i>Sympiesis</i> Förster
Eupelmidae	900 ⁽⁵⁾	Ectoparasitoides gregários. Algumas espécies hiperparasitoides	Muitos parasitam larvas que broqueiam madeiras, principalmente de Coleoptera Também podem parasitar larvas de Diptera e Lepidoptera e ovos de insetos e aranhas. Os hiperparasitoides geralmente se desenvolvem em outros Chalcidoidea	Algumas espécies dos gêneros <i>Anastatus</i> Motschulsky, e <i>Eupelmus</i> Dalman são de importância para o controle biológico de moscas-das-frutas, besouros e cinípeos
Eurytomidae	1.400	Biologia diversa, fitófagos e parasitoides. Ectoparasitoides ou hiperparasitoides. A maioria é solitária, alguns que atacam larvas de Lepidoptera são gregários	Larvas que vivem nos tecidos das plantas (caules, sementes e galhas)	

Continua...

Tabela 2. Continuação.

Família	Número de espécies	Forma de vida	Hospedeiro	Uso em controle biológico
Leucospidae	240	Ectoparasitoides	Hymenoptera Aculeata, principalmente de abelhas solitárias (Apiformes), mas também de Eumeninae (Vespidae) e Sphecidae	
Mymaridae	1.400	Parasitoides solitários (raramente gregários) de ovos. Pouco específicos	Principalmente Hemiptera (Auchenorrhyncha) e também Psocoptera, Coleoptera, Orthoptera e Diptera. Preferem hospedeiros (ovos) em situações crípticas	
Ormyridae	100 ⁽⁶⁾	Ectoparasitoides, algumas espécies hiperparasitoides	Hymenoptera (Cynipidae) e Diptera (Cecidomyiidae e Tephritidae)	
Perilampidae	300	Ectoparasitoides e hiperparasitoides	Brocas de madeira (Coleoptera). Hiperparasitoides de Tachinidae e Ichneuemonidae que atacam larvas de Lepidoptera Larva planidium que procura ativamente os hospedeiros	
Pteromalidae	3.500	Todas as formas de parasitismo. Cenobiontes e idobiontes (maioria), solitários e gregários, primários e hiperparasitoides	Larvas e pupas de insetos holometábolos em diferentes ambientes	As espécies mais importantes estão relacionadas aos parasitoides de pupas de Diptera em criações de gado, como as espécies dos gêneros <i>Spalangia</i> Latreille e <i>Muscidifurax</i> Girault and Sanders
Signiphoridae	80 ⁽⁶⁾	Endoparasitoides solitários, muitos hiperparasitoides	Parasitam primariamente Hemiptera (Coccidae, Aleyrodiade, Aphidae e Psyllidae). Hiperparasitoides de Hymenoptera (Aphelinidae) e Diptera	Impacto negativo em Aphelinidae parasitoides de moscas-brancas

Continua...

Tabela 2. Continuação.

Família	Número de espécies	Forma de vida	Hospedeiro	Uso em controle biológico
Torymidae	1.500 ⁽⁶⁾	Ectoparasitoides. Parasitoides de ovos. Algumas espécies fitófagas ou inquilinas em galhas de insetos	Ectoparasitoides atacam preferencialmente insetos galhadores (Hymenoptera: Cynipidae; e Diptera: Cecidomyiidae). Alguns parasitoides de pupas	
Trichogrammatidae	700	Parasitoides solitários (alguns podem ser gregários) de ovos. Algumas espécies são foréticas	Parasitam ovos de todos os ordens de insetos holometábolos e Hemiptera, Orthoptera e Thysanoptera. Algumas espécies parasitam ovos de insetos aquáticos, como Dytiscidae (Coleoptera), Notonectidae (Hemiptera) e Odonata	Um dos principais grupos de parasitoides no controle biológico, especialmente os do gênero <i>Trichogramma</i> Westwood. Pela facilidade de criação massal, são utilizados amplamente em programas de controle biológico inundativo em todo o mundo. No Brasil, <i>Trichogramma pretiosum</i> Riley é produzido em criações massais para controle de diversos lepidópteros-praga
Braconidae	19.000	Dividem-se em dois grandes grupos segundo a anatomia do labro, que, por sua vez, apresentam biologia diferente. Não ciclóstomos: endoparasitoides cenobiontes. Ciclóstomos: ectoparasitoides idiobiontes	Mas comumente, larvas de Lepidoptera, podem ser parasitoides do tipo ovo-larva, larva-larva e larva-pupa Outros hospedeiros conhecidos são: larvas de Coleoptera e ninfas ou adultos de Orthoptera, Psocoptera, Hemiptera, Hymenoptera e Neuroptera	Várias espécies utilizadas em controle biológico, principalmente as que parasitam pulgões e larvas de lepidóptera Alguns gêneros importantes são: <i>Aphidius</i> Nees, <i>Apanteles</i> Foerster, <i>Microplitis</i> Foerster, <i>Chelonus</i> Panzer e <i>Bracon</i> Fabricius. No Brasil, <i>Cotesia flavipes</i> (Cameron) é utilizada para controle da broca-da-cana-de-açúcar, <i>Diatraea saccharalis</i> (Fabr.). Várias espécies de <i>Aphidius</i> Nees, <i>Praon</i> Haliday, <i>Lysiphlebus testaceipes</i> (Cresson) e <i>Ephedrus plagiator</i> (Nees) foram introduzidas no Brasil em um exitoso programa de controle biológico dos pulgões-do-trigo

Continua...

Tabela 2. Continuação.

Família	Número de espécies	Forma de vida	Hospedeiro	Uso em controle biológico
Ichneumonidae	24.000 ⁽⁷⁾	Igual aos braconídeos endoparasitoides cenobiontes, ectoparasitoides idiobiontes e todas as formas intermediárias	Principalmente estágios imaturos de insetos holometábolos (principalmente Lepidoptera e Hymenoptera: Symphyta). Alguns grupos parasitam ootecas e adultos de aracnídeos	Várias espécies utilizadas em controle biológico, principalmente as que parasitam larvas de Lepidoptera. Alguns gêneros importantes são: <i>Pimpla</i> Fabricius, <i>Diadegma</i> Förster e <i>Ophion</i> Fabricius
Bethylidae	2.600 ⁽²⁾	Ectoparasitoides idiobiontes, gregários	Larvas de Lepidoptera e Coleoptera em condições crípticas, como em folhas enroladas, embaixo de caule de plantas, em galerias na madeira, nos frutos ou no solo	Algumas espécies do gênero <i>Goniozus</i> Förster utilizadas em controle biológico de lepidópteros. <i>Cephalonomia</i> Westwood tem sido utilizada no controle da broca-do-café
Chrysididae	3.000 ⁽⁷⁾	Endoparasitoides. Muitas espécies cleptoparasitoides	Ovo e larvas de insetos holometábolos. Parasitam preferencialmente Hymenoptera Aculeata (Eumenidae, Sphecidae e Apidae)	
Dryinidae	1.800	Iniciam o desenvolvimento como endoparasitoides, mas posteriormente ficam expostos em um saco protetor (<i>thylacium</i>) como ectoparasitoides	Hemiptera, principalmente Cicadellidae, Delphacidae e Flatidae	
Mutillidae	5.000	Ectoparasitoides	Larvas e pupas de insetos que vivem em condições crípticas ou em ninhos. Hymenoptera (Aculeata), Diptera (Cyclorhapha), Lepidoptera, Coleoptera e Blattodea	

Continua...

Tabela 2. Continuação.

Família	Número de espécies	Forma de vida	Hospedeiro	Uso em controle biológico
Scoliidae	300 ⁽²⁾	Ectoparasitoides solitários	Larvas de Scarabaeidae (Coleoptera), algumas espécies parasitam Curculionidae	Um único caso (<i>Scolia onyctophaga</i> Coquerel) utilizado para controle de um Lepidoptera em cana-de-açúcar
Tiphidae	1.500 ⁽²⁾	Ectoparasitoides solitários	Larvas de coleóptera que vivem no solo	Algumas espécies do gênero <i>Tiphia</i> Fabricius introduzidas nos EUA para controle de escarabeídeos
Ordem Diptera				
Nemestrinidae	300 ⁽²⁾	Endoparasitoides	Larvas de Scarabaeidae (Coleoptera) e adultos de Acrididae (Orthoptera)	
Acroceridae	475	Endoparasitoides	Aranhas, principalmente as não formadoras de teias	
Bombyliidae	3.000	Ectoparasitoides, endoparasitoides e cleptoparasitoides. Em geral as larvas procuram o hospedeiro	Podem parasitar larvas e pupas de Hymenoptera (Aculeata), endoparasitoides de larvas de Lepidoptera. Pupários de Diptera. Em geral parasitam hospedeiros em refúgios, galerias ou solo	
Asilidae	1.000	Ecto ou endoparasitoides. Larvas procuram o hospedeiro	Principalmente Scarabaeidae (Coleoptera), algumas espécies registradas em Xylocopinae (Hymenoptera: Apidae)	
Phoridae	300	Endoparasitoides	Atracam um amplo espectro de hospedeiros como formigas, outros Aculeata (Hymenoptera) e também Coleoptera, Diptera, inclusive outros invertebrados, como centopeias, caramujos e minhocas	Considerados nos EUA como candidatos para controle biológico de formigas invasoras (<i>Solenopsis</i> sp.)
Pipunculidae	600	Endoparasitoides. Possuem ovipositor perfurante	Ninfas de Hemiptera (Delphacidae e Cicadellidae)	
Conopidae	800	Endoparasitoides. Possuem ovipositor perfurante	Hymenoptera Aculeata. Membros do gênero <i>Stylogaster</i> Macquart parasitam grilos e baratas.	

Continua...

Tabela 2. Continuação.

Família	Número de espécies	Forma de vida	Hospedeiro	Uso em controle biológico
Pyrgotidae	330	Endoparasitoides	Adultos de Scarabaeidae (Coleoptera)	
Calliphoridae	240	Endoparasitoides	Parasitam invertebrados de corpo mole como: minhocas, caramujos e anfíbios	
Sarcophagidae	1.250	Endoparasitoides e cleptoparasitoides	Larvas e pupas de Diptera, Isoptera, Hemiptera, Lepidoptera e outros invertebrados de corpo mole (minhocas e caramujos)	Algumas espécies europeias foram utilizadas em programas de controle biológico clássico de <i>Lymantria dispar</i> (L.) nos EUA
Tachinidae	8.000 ⁽²⁾	Endoparasitoides solitários	Parasitam grande diversidade de hospedeiros em diversos ambientes como plantas e solo. Larvas de Lepidoptera, larvas e adultos de Coleoptera e Hemiptera, larvas de Diptera, Dermaptera e Orthoptera	Principal grupo de dípteros parasitoides. Várias espécies têm sido utilizadas em programas de controle biológico de diversas pragas, principalmente Lepidoptera e Hemiptera
Ordem Coleoptera				
Carabidae	470	Ectoparasitoides. Larvas procuram o hospedeiro	Artrópodes no solo (centopeias, pupas de Coleoptera) e em partes aéreas das plantas (pupas de Chrysomelidae, Coleoptera)	
Staphylinidae	500	Ectoparasitoides. Larvas procuram o hospedeiro	Principalmente pupários de Diptera em serapilheira, material em decomposição, ninhos de vertebrados e formigueiros.	
Rhipiphoridae	400	Majoritariamente endoparasitoides. Larvas do primeiro estágio foréticas nos adultos das espécies que parasitam	Larvas de Hymenoptera e Coleoptera. Adultos de Blattodea	

Continua...

Tabela 2. Continuação.

Família	Número de espécies	Forma de vida	Hospedeiro	Uso em controle biológico
Meloidae	2.000	Cleptoparasitoídes. Primeiro estágio larval forético	Parasitam principalmente abelhas solitárias que nidificam no solo	
Bothriideridae	150	Ectoparasitoídes. Larvas procuram o hospedeiro	Larvas e pupas de Coleoptera em madeiras em decomposição. Algumas espécies podem parasitar Xylocopinae (Hymenoptera: Apidae) nos mesmos ambientes	
Ordem Lepidoptera				
Epiptyropidae	10	Ectoparasitoídes. Larvas procuram o hospedeiro	Ninfas de Hemiptera, ocasionalmente larvas de Lepidoptera expostas em plantas.	
Ordem Neuroptera				
Mantispidae	50	Ectoparasitoídes. Larvas procuram o hospedeiro.	Larvas e pupas de Scarabaeidae (Coleoptera), Apidae (Hymenoptera) e pupas de Noctuidae (Lepidoptera) no solo	
Ordem Strepsiptera				
Onze famílias	600	Endoparasitoídes. Larvas procuram o hospedeiro. Fêmeas neotênicas	Blattodea, Mantodea, Orthoptera, Hemiptera, Hymenoptera e Thysanura	Algumas espécies consideradas com potencial para controle de cigarrinhas e defelcoides de gramíneas (cana-de-açúcar, arroz e milho). Sem registros no Brasil

⁽¹⁾ Classificação taxonômica das famílias segundo Sharkey (2007). ⁽²⁾ Espécies principalmente de regiões tropicais. ⁽³⁾ Espécies de áreas tropicais do Hemisfério Sul. ⁽⁴⁾ Espécies majoritariamente de regiões tropicais e subtropicais. ⁽⁵⁾ Espécies principalmente de regiões tropicais e subtropicais. ⁽⁶⁾ Espécies cosmopolitas. ⁽⁷⁾ Espécies principalmente de regiões temperadas.

Lista adicional de famílias com menor número de espécies ou com posição sistemática ainda não totalmente resolvida (número estimado de espécies) – Hymenoptera: Austroniidae (3), Heloridae (< 10), Pelecinidae (2), Peradeniidae (2), Proctorenyxidae (2), Roproniidae (18), Vantorniidae (5), Monomachidae (20), Maamingidae (2), Ibalidae (15), Liopteridae (3), Rotoitidae (2), Tanaostigmatidae (90), Tetracampidae (50), Mymarommatidae (< 10), Embolemiidae (< 20), Plumariidae (< 20), Sclerogibbidae (3), Rhopalosomatidae (~35), Brachynobaenidae (155), Sapygidae (~80). Diptera: Anthomyiidae (43), Cecidomyiidae (6), Chironomidae (2), Chloropidae (6), Cryptochetidae (25), Empididae (4), Mycetophilidae (4), Muscidae (13), Phaeomyiidae (4), Rhinophoridae (90), Sciomyzidae (6), Coleoptera: Cleridae (26), Curculionidae (3), Passandridae (10), Rhipiceridae (50), Scarabaeidae (10), Lepidotera: Pyralidae (1).

Fonte: Adaptado de Goulet e Huber (1993), Godfray (1994), Feener e Brown (1997), Gaud e Bolton (2002), Fernández e Sharkey (2006) e Quicke (2015).

de um hospedeiro e permitir seu desenvolvimento até a fase adulta, assim encontramos uma variação no tipo de parasitismo desses insetos, que podem ser classificados como parasitoides de ovo, larva, pupa ou adulto. Quando o hospedeiro muda de estágio durante o desenvolvimento do parasitoide, temos, segundo o estágio parasitado e o estágio do qual os adultos emergem, parasitoides de ovo-larva, ovo-ninfa, ovo-pupa, ovo-adulto, larva-pupa, larva-adulto (Tabela 2).

Em relação à especificidade, definida como o espectro de espécies hospedeiras (número e diversidade taxonômica) que um parasitoide pode atacar, os parasitoides podem ser generalistas ou especialistas. Os generalistas são aqueles que podem parasitar um espectro amplo e alternar entre diferentes hospedeiros para reduzir competição ou selecionar os hospedeiros segundo a sua qualidade. Por sua vez, os parasitoides especialistas possuem um número reduzido de espécies hospedeiras – em casos extremos, uma única espécie –, com os quais estabelecem estreita dinâmica de interações. O grau de especificidade está condicionado fortemente por vários fatores, tais como: o valor nutricional e a fisiologia do hospedeiro; a filogenia e a história evolutiva de ambos, hospedeiro e parasitoide; a distribuição espaço-temporal dos hospedeiros alternativos; a eficiência de mecanismos de busca de hospedeiros; e a habilidade defensiva do hospedeiro (Quicke, 2015).

Analisando os dois maiores grupos de parasitoides, em geral considera-se os himenópteros mais especialistas que os dípteros, o que pode ter relação com a forma de vida dos ancestrais e a história evolutiva de ambos os grupos. Em um estudo que avaliou os parasitoides de um bioma tropical, foi identificado que himenópteros Braconidae são mais específicos do que os dípteros Tachinidae, e os Ichneumonidae surpreendentemente foram os parasitoides que mostraram menor especificidade (Hreck et al., 2013). Na Tabela 2, observa-se a relação de hospedeiros em relação às famílias dos parasitoides e às ordens/famílias dos insetos hospedeiros.

COMPORTAMENTO NA BUSCA DE HOSPEDEIROS

Durante seu ciclo vital, os parasitoides passam por uma etapa crucial, que é o momento no qual as fêmeas precisam procurar um novo hospedeiro para parasitar (busca) e, uma vez localizado, decidir se o aceitam para oviposição (seleção) (Godfray, 1994). Esse processo é fundamental do ponto de vista do controle biológico, já que o parasitismo bem-sucedido culmina com a morte do hospedeiro e consequentemente tem impacto nos níveis populacionais do inseto-alvo do controle.

O forrageamento das fêmeas dos parasitoides inclui uma série de passos comportamentais sequenciais, que incluem: a localização do habitat do hospedeiro, a localização do hospedeiro, o reconhecimento e a aceitação do hospedeiro e a adequação para o desenvolvimento (do inglês *host suitability*). Esta última etapa inclui as características do hospedeiro que permitem o desenvolvimento satisfatório do parasitoide (Doutt, 1959; Van Alphen; Vet, 1986; Vinson, 1998; Steidle; Van Loon, 2002). Segundo Vinson e Iwantsch (1980), o parasitismo bem-sucedido depende ainda da regulação fisiológica do hospedeiro.

Durante a busca de hospedeiros, os parasitoides utilizam estímulos ou pistas, de natureza física (visuais ou mecânicas), química (semioquímicos) ou bioquímica, dos quais os semioquímicos são os mais frequentemente utilizados por vespas (Hymenoptera) parasitoides (Vinson, 1985; Godfray, 1994). Os estímulos podem ser de longo alcance, originados em distâncias de vários metros, ou de curto alcance, quando as fêmeas se encontram no micro-habitat do hospedeiro. Alguns exemplos de pistas utilizadas por insetos parasitoides são detalhados na Tabela 3. Os estímulos recebidos pelo inseto durante as etapas de localização do habitat e localização do hospedeiro, modificam seus padrões de movimentação e podem gerar respostas táxicas (de orientação) ou quinéticas (modificação do padrão geral de movimentação). Durante as etapas de reconhecimento e aceitação, os estímulos contribuem para identificar e selecionar o hospedeiro.

As formas como os parasitoides utilizam essa informação têm sido discutidas amplamente. Alguns autores chamaram a atenção para a característica hierárquica e estática do modelo sequencial de comportamentos descrito previamente. Lewis et al. (1990) e Vet et al. (1990) propõem um modelo dinâmico no qual vários aspectos devem ser considerados, tais como: 1) a qualidade de informação dos estímulos – pistas mais estreitamente relacionadas com o hospedeiro devem ser preferidas frente a estímulos com pouca informação a seu respeito; 2) a disponibilidade do estímulo – pistas que sejam mais fáceis de ser detectadas, ainda que de baixa qualidade de informação, podem ser preferidas frente às pistas com alta qualidade de informação, porém mais difíceis de ser detectadas. Esses dois primeiros aspectos formam parte da hipótese de previsibilidade/detectabilidade proposta por Vet et al. (1991). Essa hipótese se fundamenta no fato de os insetos herbívoros, principais hospedeiros dos parasitoides, produzirem pistas que são confiáveis em relação à identidade, mas pouco conspícuas e de difícil detecção no ambiente. Para contornar esse problema nos parasitoides, três mecanismos evoluíram: 1) aprendizado associativo: obtido por meio de experiências nas quais o parasitoide relaciona um estímulo de fácil detecção com a presença de hospedeiros (Vet et al., 1995); 2) desvio infoquímico: quando o parasitoide utiliza sinais originados em estágios do hospedeiro não atacados, mas que produzem sinais mais

Tabela 3. Natureza e tipo de pistas/estímulos utilizados por insetos parasitoides nas diferentes etapas da busca de hospedeiros (forrageamento), com exemplos de uso em cada caso.

Etapa de busca	Pista/estímulo		Exemplo
	Natureza	Tipo	
Localização do habitat	Química	Voláteis induzidos por herbivoria (VIHs)	Plantas injuriadas por larvas de <i>Spodoptera exigua</i> (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) atraem seletivamente o parasitoide <i>Cotesia marginiventris</i> (Cresson) (Turlings et al., 1990). Posteriormente comprovado em inúmeros sistemas tritróficos, incluindo herbívoros mastigadores e sugadores
		Voláteis do micro-habitat	O parasitoide <i>Leptopilina clavipes</i> (Harting) (Figitidae) responde a voláteis produzidos por fungos no micro-habitat dos seus hospedeiros (Vet, 1983)
	Química	Feromônios sexuais	Braconídeos do gênero <i>Praon</i> Haliday respondem ao feromônio sexual de seus hospedeiros (pulgões) (Hardie et al., 1991)
		Feromônios de alarme	Parasitoides de ovos de percevejos <i>Telenomus podisi</i> Ashmead e <i>Trissolcus basalís</i> (Wollaston) (Hymenoptera: Platygastriidae) respondem a compostos presentes nas glândulas metatorácicas dos percevejos (Pentatomidae) (Laumann et al., 2009)
Localização do hospedeiro	Química	Rastros	Rastros químicos de percevejos são arrestantes para o parasitoide de ovos <i>T. podisi</i> Ashmead (Borges et al., 2003)
		Resíduos	Escamas de <i>Pteris brassicae</i> (L.) e <i>Pieris rapae</i> (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) estimulam o comportamento de busca do parasitoide <i>Trichogramma evanescens</i> Westwood (Noldus; Van Lenteren, 1985)
		Formato/movimento	Parasitoides de várias famílias de dípteros utilizam sinais originados pelo movimento dos hospedeiros para localizá-los e atacá-los. Entre eles provavelmente o comportamento mais extremo é o dos Conopidae, que podem atacar hospedeiros em voo (Godfray, 1994)
	Visual	Som	<i>Ormia</i> (= <i>Euphasiopteryx</i>) <i>ochracea</i> Bigot (Tachinidae) é atraído pelo canto dos machos do grilo <i>Gryllus integer</i> Scudder (Orthoptera: Gryllidae) (Cadé, 1975)
		Vibrações	Movimentos da larva do inseto minador, <i>Phylloorycter malella</i> Ger. (Lepidoptera: Gracillariidae), geram vibrações nos tecidos das plantas utilizadas pelo parasitoide <i>Sympiesis sericeicornis</i> Nees (Hymenoptera: Eulophidae) para localizar o hospedeiro (Meyhofer et al., 1997)
	Reconhecimento/aceitação do hospedeiro	Química	Compostos específicos externos
Compostos específicos internos			<i>Leptopilina heterotoma</i> (Thomson) (Hymenoptera: Figitidae) insere o ovipositor no hospedeiro, larvas de <i>Drosophila</i> spp. (Diptera: Drosophilidae), e, utilizando sensilas especializadas, pode determinar se está parasitado e a densidade de parasitoides no hospedeiro (Ruschioni et al., 2015)

facilmente notados (Vet; Dicke, 1992); 3) utilização de voláteis de plantas induzidos por herbivoria (VIH), que são sinais derivados de plantas emitidos em resposta à injúria dos herbívoros. Essas pistas fornecem informação de fácil detecção, por serem produzidas em maior abundância em razão da maior biomassa das plantas em relação ao hospedeiro (veja exemplos na Tabela 3).

Com base nessas premissas, Vet et al. (1990, 1995) propuseram um modelo de resposta variável que expressa a plasticidade de resposta de parasitoides diante de estímulos (principalmente químicos). A ideia central desse modelo é considerar que cada estímulo percebido por um parasitoide possui um potencial de resposta característico e que essa resposta inata pode ser alterada pela experiência do inseto.

Com o marco conceitual desses modelos, e com base na análise de dados de 95 espécies de parasitoides e predadores de insetos, Steidle e Van Loon (2003) estabeleceram as seguintes previsões: 1) todos os insetos carnívoros, independentemente da sua especialização de dieta, utilizam semioquímicos durante o forrageamento; 2) em geral, os insetos especialistas utilizam pistas específicas e os generalistas utilizam pistas menos específicas; 3) o uso inato de semioquímicos pelos insetos entomófagos independe de seu grau de especialização; e 4) o aprendizado para uso de semioquímicos ocorre mais frequentemente em insetos generalistas e raramente em especialistas.

Assim, para melhor compreensão do comportamento de forrageamento de um parasitoide, é necessário conhecer os estímulos envolvidos, os comportamentos que desencadeiam nos parasitoides e as possíveis variações derivadas da experiência do inseto. Esses conhecimentos são de suma importância já que, além de esclarecer os aspectos básicos do comportamento desses insetos, podem contribuir para que se compreenda a dinâmica temporal e espacial da relação hospedeiro-parasitoide e podem permitir o desenvolvimento de ferramentas para seu manejo visando a sua utilização no controle biológico de pragas (Hassell, 2000; Mills; Wajnberg, 2008).

Após o encontro, os parasitoides exibem uma série de comportamentos que permitem o reconhecimento/discriminação do hospedeiro, a decisão de oviposição e finalmente a manipulação fisiológica do hospedeiro para favorecer o desenvolvimento da sua progênie. O reconhecimento e a seleção do hospedeiro no qual irá depositar os ovos baseiam-se numa série de estímulos de diferentes naturezas que incluem composição química, tamanho, forma, textura e cor, entre outros (Godfray, 1994; Borges et al., 1999) (Tabela 3). Esses estímulos fornecem ao parasitoide informações qualitativas e quantitativas, permitindo-lhe determinar a identidade, o estágio de desenvolvimento, o estado fisiológico e a disponibilidade de recursos (tamanho). A detecção dessas informações ocorre nas sensilas específicas presentes nas antenas (Romani et al., 2010) e no ovipositor (Quicke et al., 1999), complementadas

com a visão. Um comportamento característico dos parasitoides, a antenação, que consiste em inspecionar o hospedeiro com movimentos das antenas, está diretamente relacionado com a obtenção de informação química para aceitação do hospedeiro. Características morfológicas das antenas como segmentos com coloração específica, geralmente mais claros que o restante do corpo, principalmente brancos, estão associadas com mecanismos de medição do tamanho do hospedeiro. O parasitoide utilizaria como pontos de referência essas regiões com coloração específica (Godfray, 1994).

COMPORTAMENTO DE OVIPOSIÇÃO

Reconhecimento e aceitação do hospedeiro

As características do hospedeiro previamente descritas são determinantes em relação à identidade e ao tamanho da progênie que um hospedeiro pode suportar e condicionam a decisão do parasitoide no ato da oviposição. A aceitação e a adequação dependem de uma série de comportamentos específicos (Doutt, 1959; Vinson; Iwantsch, 1980).

Nos parasitoides solitários, a aceitação e a determinação da adequação do hospedeiro atuam decisivamente para a oviposição, mas em parasitoides gregários as fêmeas devem também definir a quantidade de ovos que irão depositar. Nesse caso, existem mecanismos que regulam o número de ovos a fim de maximizar o desempenho (*fitness*) da progênie (Lack, 1947; Godfray, 1994). Tais mecanismos exigem uma precisa avaliação dos recursos oferecidos pelo hospedeiro e possuem uma dinâmica influenciada pelo estágio fisiológico das fêmeas (carga de ovos, reservas de energia e idade) e pela experiência prévia, como taxa de encontro com hospedeiros, taxa de encontro com competidores, tempo de deslocamento e distância entre fragmentos do ambiente com hospedeiros, entre outros. As fêmeas com reservas de energia e em ambientes com abundância de hospedeiros tendem a ser mais seletivas nas suas escolhas e depositam menos ovos em cada hospedeiro ou atacam menos hospedeiros em cada parte do ambiente. Em contraste, fêmeas com menores reservas de energia e em ambientes com baixa densidade de hospedeiros tendem a aceitar hospedeiros de menor qualidade e a depositar maior número de ovos em cada hospedeiro ou parasitar maior número de hospedeiros em cada fragmento do ambiente (Hassel, 2000; Heimpel; Casas, 2008).

Mecanismos de oviposição

A maioria dos parasitoides depositam seus ovos diretamente no corpo dos hospedeiros, tanto internamente quanto externamente (Brodeur; Boivin, 2004). Os mecanismos de oviposição variam entre os diferentes grupos de parasitoides. Os Hymenoptera possuem um ovipositor flexível que permite atacar hospedeiros em diferentes ambientes e condições, tanto os que vivem expostos como aqueles que vivem em condições crípticas no interior do tecido das plantas, em galerias em madeira ou no solo. A estrutura do ovipositor permite aos parasitoides perfurar o tecido do hospedeiro e realizar a oviposição no interior de seu corpo, o que os caracteriza como endoparasitoides. Outra vantagem desse mecanismo de oviposição é que permite avaliação das condições físico-químicas internas do hospedeiro, evitando a oviposição em hospedeiros inadequados ou que não ofereçam condições ótimas para o desenvolvimento da progênie.

A oviposição interna oferece às larvas um ambiente com condições estáveis e rico em nutrientes, o que favorece a produção de ovos de menor tamanho e com menor quantidade de vitelo, com a conseqüente economia de recursos e energia. As vespas parasitoides Aculeata (Chrysidoidea e Vespoidea), os Diptera e os Coleoptera não têm ovipositor desenvolvido e, em geral, depositam os ovos externamente. Isso é favorecido pelo habitat dos seus hospedeiros que vivem expostos nas partes aéreas das plantas ou que habitam no solo, na serapilheira e em outros restos vegetais. A oviposição externa requer ovos maiores e ricos em vitelo que permitam o desenvolvimento de larvas de maior tamanho com capacidade de se fixar/penetrar no hospedeiro ou ainda procurá-lo ativamente. Isso tem clara relação com os modos de vida dos parasitoides, em geral os idiobiontes são ectoparasitoides e os cenobiontes são endoparasitoides (Tabela 1).

Como a produção de ovos entre esses dois grupos requer consumo de energia diferente, existem diversas estratégias para maximizar seu uso. Flanders (1950) reconhece duas categorias: os parasitoides pré-ovigênicos, espécies que iniciam a vida adulta com quantidade fixa e predeterminada de ovos, e os parasitoides sinovigênicos, aqueles que possuem a capacidade de produzir ovos durante sua vida reprodutiva. Embora essas duas categorias sejam extremas, podem-se encontrar formas intermediárias. Para expressar essas variações, Jervis et al. (2001) desenvolveram o conceito de índice ovigênico, que é o cálculo do número de ovos com que uma fêmea de parasitoide emerge dividido pela fecundidade total. Assim, em uma espécie totalmente pré-ovigênica, o índice ovigênico é 1; enquanto em uma completamente sinovigênica, o índice é 0.

Posteriormente, ao considerar os índices ovigênicos e outros aspectos da história de vida de um grupo de 34 espécies de parasitoides (Hymenoptera e Diptera), Jervis et al. (2008) construíram curvas de fecundidade específica por idade. Essa análise permitiu classificar os parasitoides estudados em quatro categorias diferentes:

- Tipo 1 – estritamente pré-ovigênicos, parasitoides que mostram curvas de fecundidade com picos iniciais e rápida diminuição. A fecundidade potencial (total) dessas espécies é muito variável. Esse tipo foi encontrado em Braconidae, Figitidae, Trichogrammatidae, Eulophidae e Platygastriidae.
- Tipo 2 – representa parasitoides sinovigênicos que emergem como adultos com número de ovos que representa uma fração da fecundidade potencial e atingem sua máxima fecundidade poucos dias após a emergência. Nesses parasitoides, a fecundidade potencial é muito variável. Em muitos casos, pode ser alta, atingindo mais de 500 ovos. Essa é uma característica de muitos Braconidae e Ichneumonidae, sendo também relatado em Tachinidae.
- Tipo 3 – representa parasitoides sinovigênicos com um período pré-reprodutivo curto e curva de fecundidade similar à das fêmeas de tipo 2, mas com a fecundidade potencial menor. Espécies de Megaspilidae, Ichneumonidae, Figitidae, assim como várias famílias de Chalcidoidea, Platygastriidae e Tachinidae, apresentam este tipo de curva de fecundidade.
- Tipo 4 – reúne espécies extremamente sinovigênicas, que emergem como adultos sem ovos, por isso possuem um período pré-reprodutivo mais longo e depositam poucos ovos e por um período maior de tempo em relação às espécies dos outros tipos. Essas espécies em geral apresentam fecundidades potenciais com menores valores (menos de 50 ovos durante a sua vida). Esse tipo de curva de fecundidade foi registrado em Ichneumonidae, Chalcididae e Aphelinidae.

Os parasitoides pré-ovigênicos, pelo fato de acessarem facilmente recursos metabólicos durante o desenvolvimento dos imaturos, principalmente lipídeos e proteínas, e de não destinarem energia metabólica adicional para a produção de ovos no estágio adulto, produzem ovos de maior tamanho e ricos em vitelo (ovos hidrópicos), característica essa que é especialmente adaptada para os parasitoides idiobiontes. Já os parasitoides sinovigênicos, pelo fato de consumirem energia para produção de ovos, produzem ovos não hidrópicos, com pouco vitelo e produzidos em maior número. Essa é uma característica dos parasitoides com modo de vida cenobionte (Mayhew; Blackburn, 1999). Assim, os parasitoides pré-ovigênicos somente precisam de energia adicional na fase adulta para manutenção fisiológica e locomoção, enquanto os parasitoides sinovigênicos precisam obter energia também para produção de

ovos. Jervis et al. (2008) propõem uma nova denominação para os parasitoides que leva em consideração o índice ovigênico e a dinâmica de uso de recursos nutricionais. Segundo essa perspectiva, os parasitoides podem ser reprodutores de capital (do inglês *capital-breeders*), que utilizam como única fonte de energia e recursos materiais aqueles obtidos durante o desenvolvimento larval, ou reprodutores de renda (do inglês *income-breeders*), que utilizam recursos obtidos pelos adultos.

Nos reprodutores de renda, os recursos adicionais podem ser obtidos de duas fontes, alimentando-se do hospedeiro e de outras fontes, principalmente néctar das plantas, tanto de nectários florais como extraflorais, e das secreções ricas em carboidratos (*honeydew*) de insetos sugadores, como moscas-brancas (Aleyrodidae) e pulgões (Aphididae) (Jervis; Kidd, 1986). Ainda em ambientes pobres em recursos (alimento e hospedeiros), a reabsorção de ovos pode fornecer energia adicional e recursos para reciclagem e produção de novos ovos, permitindo oviposição bem-sucedida quando os indivíduos se encontram em ambientes mais favoráveis (Rosenheim et al., 2000).

A alimentação dos adultos no hospedeiro permite acesso rápido a fontes de proteínas e lipídeos, que são os precursores diretos dos materiais necessários para a produção de ovos (Strand; Casas, 2008). Esse é um fato bem estudado nos parasitoides sinovigênicos e implica uma dinâmica especial nas relações hospedeiro-parasitoide, já que, além da mortalidade originada pelo parasitismo, existe, na maioria dos casos, um fator adicional de mortalidade originado pela alimentação (Rivero; West, 2005). Esses parasitoides têm de balancear continuamente as necessidades de nutrientes obtidos pela alimentação nos tecidos do hospedeiro com o ganho da reprodução (oviposição). Embora nos dois casos (alimentação – oviposição) exista ganho em aptidão, a decisão por um comportamento ou outro depende das condições imediatas, como disponibilidade de hospedeiros e carga de ovos do parasitoide, e futuras, avaliadas previamente a partir da experiência de oviposição e busca de hospedeiros. Quando a densidade de hospedeiros excede o número de ovos maduros disponíveis para oviposição (parasitoides com limitação de ovos), o parasitoide prioriza a alimentação. Por sua vez, quando a densidade de hospedeiros é menor que o número de ovos maduros, a limitação é dada pelo tempo necessário para a procura e localização dos hospedeiros (parasitoides com limitação de tempo). Neste último caso, o parasitoide prioriza o parasitismo (Bernstenin; Jervis, 2008).

Oviposição no ambiente

Embora a maioria dos parasitoides deposite seus ovos diretamente no corpo do hospedeiro, um amplo número de espécies realiza a oviposição sem ter contato

direto com ele. Três mecanismos principais de oviposição sem contato com os hospedeiros podem ser reconhecidos.

No caso da família Tachinidae (Diptera) e de uma família de vespas parasitoides (Trigonalidae), os ovos são depositados no ambiente, geralmente nos locais de alimentação dos hospedeiros, onde são ingeridos por eles e eclodem em seu intestino, em seguida as larvas do parasitoide colonizam o corpo dos hospedeiros. No caso da família Trigonalidae, a probabilidade de os ovos serem ingeridos pelos hospedeiros se incrementa com a estratégia de depositar um grande número de ovos, que pode chegar a mais de 10 mil. Já os Tachinidae têm evoluído mecanismos para reconhecer a presença de hospedeiros no ambiente, como, por exemplo, substâncias químicas voláteis e não voláteis liberadas pelas plantas após a injúria de alimentação dos hospedeiros (Godfray, 1994).

Outro mecanismo amplamente difundido em Diptera, Coleoptera, em algumas famílias de vespas, como Perilampidae, Eucharitidae e Ichneumonidae (Eucerotinae), e, em menor grau, em parasitoides das ordens Lepidoptera e Neuroptera, é o da procura ativa dos hospedeiros pelo primeiro instar larval (Godfray, 1994; Feener; Brwon, 1997). Contudo, em *Mallophora ruficauda* Wiedemann (Diptera: Asilidae) são as larvas do segundo instar que procuram ativamente os hospedeiros, larvas de Scarabaeidae, sendo esse o único caso conhecido de procura ativa pelo segundo instar larval do parasitoide (Crespo; Castelo, 2008). Dois tipos principais de larvas são encontrados em parasitoides que procuram por seus hospedeiros: tipo planidium, característico dos himenópteros e dípteros, que não têm pernas e se locomovem utilizando setas abdominais longas e flexíveis; e tipo triangulim, que são características de Coleoptera e possuem os três pares de pernas torácicas característicos das larvas de várias famílias dessa ordem.

Nesse caso, para aumentar as chances de contato com os hospedeiros as fêmeas dos parasitoides depositam os ovos em locais onde encontram evidências da presença deles. Como a seleção final do hospedeiro é realizada pela larva, que dispõe de uma única oportunidade de parasitismo, a escolha de um hospedeiro inadequado é mais custosa, e os mecanismos de escolha e decisão, embora pouco conhecidos, estão sob forte pressão de seleção (Brodeur; Boivin, 2004).

Finalmente, alguns parasitoides utilizam uma estratégia de forésia (transporte por organismos de outra espécie) para encontrar os hospedeiros (Eggleton; Belshaw, 1993). No caso de parasitoides de ovos das famílias Platygastriidae e Trichogrammatidae, as fêmeas localizam o estágio adulto dos seus hospedeiros, geralmente fêmeas, e ficam sobre o corpo deles aproveitando-se dos movimentos do hospedeiro para se locomover. No ato da oviposição do hospedeiro, o parasitoide desce do seu corpo e parasita as massas de ovos recém-depositadas. Em Pteromalidae, que se

desenvolvem como parasitoides de pupas de Lepidoptera, existem casos de forésia nos últimos estágios larvais do hospedeiro. Outro tipo de forésia se dá nos parasitoides de himenópteros (sociais ou não) que constroem ninhos. Nesse caso, os parasitoides, coleópteros (Meloidae e Ripiphoridae) e himenópteros (Eucharitidae), têm larvas de tipo triangulim, que procuram os adultos para serem transportados até os ninhos.

DISTRIBUIÇÃO DE SEXOS E RAZÃO SEXUAL DA PROGÊNIE

No caso específico dos himenópteros parasitoides, outro comportamento relevante no ato da oviposição é a distribuição de sexos na descendência. Da mesma forma que ocorre na maioria dos himenópteros, a determinação de sexo nas vespas parasitoides é por haplodiploidia, com machos haploides (n) originados a partir de ovos não fertilizados (partenogenéticos) e fêmeas diploides ($2n$) produzidas a partir de ovos fertilizados. Assim, a razão sexual da progênie está no controle direto das fêmeas dos parasitoides e pode ser adaptado a condições específicas, como disponibilidade de recursos, presença de competidores e razão sexual da população, entre outros (Godfray, 1994; Ode; Hardy, 2008).

Em geral, em himenópteros parasitoides, principalmente os gregários, a razão sexual é claramente desproporcional, com maioria de fêmeas, afastando-se da razão sexual de 0,5 (1 macho: 1 fêmea) proposta pela teoria de Fisher em 1930 (Godfray, 1994) para populações em que os acasalamentos ocorrem ao acaso. A explicação para esse desvio no caso dos insetos parasitoides foi apresentada por Hamilton (1967) em sua hipótese de competição local por acasalamento, que acontece quando as fêmeas distribuem sua descendência em locais com recursos discretos e o resultado é a competição dos machos pelas fêmeas. Nesses casos, a proporção ótima de machos é dada pela relação $(n - 1) / 2n$, em que n representa o número de fêmeas. Quando o n é grande, a maior parte dos machos da população pode ter acesso às fêmeas e a razão sexual fica próxima de 0,5. Quando o número de fêmeas é pequeno, o número de machos produzidos deve ser o suficiente para fecundar todas as fêmeas, e a razão sexual (proporção de machos) decresce, afastando-se da população panmítica (acasalamentos ao acaso). Assim, esse comportamento de distribuição de sexos nos descendentes é fundamental do ponto de vista do controle biológico, já que a manutenção de populações com razão sexual que tende para maior proporção de fêmeas, considerando que são as fêmeas que atacam os hospedeiros, assegura um maior impacto nas populações de pragas. Isso também é de grande relevância em programas de criação massal para liberações inoculativas (Ode; Hardy, 2008).

A produção de machos diploides pode ocorrer em Hymenoptera pela determinação sexual complementar por um único locus (do inglês *single-locus complementary sex determination* – sICSD), descrita pela primeira vez em 1939 por Whiting no parasitoide *Habrobracon hebetor* (Say) (Beukeboom; Zwaan, 2007). A sICSD foi observada em Apidae, Diprionidae, Formicidae, Tenthredinidae, Vespidae e em famílias de parasitoides frequentemente utilizadas em programas de controle biológico de pragas, como Braconidae e Ichneumonidae (Wu et al., 2003). Esse modo de determinação sexual envolve, em média, de 10 e 20 alelos do mesmo locus gênico, mas podem ser envolvidos até 86 alelos em alguns casos (Beukeboom; Zwaan, 2007; Heimpel; Boer, 2008). A heterozigose resulta no desenvolvimento de fêmeas, enquanto em homozigose são desenvolvidos machos diploides. Dessa forma, a endogamia é a principal causa da sICSD, a qual aumenta a proporção de machos na prole. Como os machos formados pela sICSD são em maioria estéreis ou morrem durante o seu desenvolvimento pré-imaginal (Wu et al., 2003; Beukeboom; Zwaan, 2007; Heimpel; Boer, 2008), especial atenção deve ser dada para a manutenção da variabilidade genética de parasitoides utilizados em programas de controle biológico (Wu et al., 2003).

Além do mecanismo genético, existe outra via pela qual a razão sexual dos parasitoides pode ser mudada. As bactérias do gênero *Wolbachia* e outras relacionadas evolutivamente, como *Arsenophonus nasoniae*, *Cardinium hertigii* e *Rickettsia* sp., são simbióticas intracelulares de artrópodes (Russell; Stouthamer, 2010). Essas bactérias têm uma impressionante distribuição entre os insetos, estimando-se que pelo menos 20% das espécies de insetos estejam associadas a *Wolbachia*. No caso dos parasitoides, em alguns grupos a associação pode chegar a mais de 50% das espécies conhecidas (Cook; Butcher, 1999; Southamer et al., 1999). Estimativas posteriores assinalam que a porcentagem de espécies conhecidas de insetos infectada por *Wolbachia* pode atingir mais de 60% (Werren et al., 2008). As bactérias colonizam as gônadas dos insetos infectados e seus principais efeitos são os seguintes: desenvolvimento de incompatibilidade citoplasmática entre os espermatozoides de machos infectados e óvulos de fêmeas não infectadas, impedindo a fertilização; feminização de machos infectados; e indução de partenogênese telítica (produção de fêmeas a partir de óvulos não fertilizados). Este último efeito é caracteristicamente observado em insetos parasitoides. Assim, a infecção com a bactéria privilegia a produção de fêmeas na população e assegura a transmissão vertical da bactéria. Por causa desse processo, *Wolbachia* e as bactérias relacionadas são consideradas parasitas sexuais (Werren et al., 2008) e, em parasitoides, atuam de modo a induzir um desvio da razão sexual com aumento da proporção de fêmeas na população.

INTERAÇÕES HOSPEDEIRO-PARASITOIDE: REGULAÇÃO FISIOLÓGICA DO HOSPEDEIRO

A regulação fisiológica consiste em uma série de alterações fisiológicas e bioquímicas no hospedeiro, que permite ao parasitoide desenvolver-se satisfatoriamente, maximizando a obtenção de energia metabólica e, conseqüentemente, o seu desempenho.

O hospedeiro responde ao ataque dos parasitoides com diversos mecanismos de defesa. Gross (1993) reconhece três tipos principais:

- Características do hospedeiro que reduzem a probabilidade de serem encontrados e contatados, tais como: redução da janela de vulnerabilidade, que diminui o tempo de desenvolvimento de ovos ou larvas; distribuição em refúgios ou locais do espaço livres de inimigos; ou redução da emissão de pistas utilizadas pelos parasitoides (ex.: emissão de feromônios somente em períodos quando o parasitoide não é ativo).
- Defesas morfológicas e comportamentais. Aqui se incluem os fenômenos bem conhecidos, como mimetismo, aposematismo, presença de espinhos ou estruturas que dificultam o ataque pelos parasitoides.
- Defesas fisiológicas que matam ovos ou larvas do parasitoide. Essas podem ser originadas a partir de substâncias tóxicas sequestradas das plantas ou de mecanismos imunológicos, que incluem fatores humorais, como proteínas e carboidratos complexos, entre outros, e fatores celulares.

Os hemócitos são as principais células defensivas dos insetos que promovem a encapsulação e a melanização. Esses mecanismos, que são encontrados mais frequentemente em resposta a endoparasitoides, consistem em rodear os parasitoides com várias camadas de hemócitos. Na mais interna dessas camadas, geralmente ocorre acúmulo de melanina. A encapsulação finaliza com a morte do ovo ou da larva neonata dos parasitoides (Vinson, 1990). Em pulgões, a resistência fisiológica pode ocorrer sem o encapsulamento, e três espécies de bactérias endossimbiontes (*Serratia symbiotica*, *Hamiltonella defensa* e *Regiella insecticola*) são apontadas como as responsáveis pela defesa dos pulgões frente aos parasitoides (Oliver et al., 2003; Vorburger et al., 2010).

Para lidar com as defesas fisiológicas do hospedeiro, os parasitoides possuem um arsenal de mecanismos que permitem reduzir as defesas imunes do hospedeiro e modificar seu desenvolvimento/crescimento. Um dos mais difundidos entre os

himenópteros parasitoides é a presença de glândulas de veneno relacionadas com o sistema reprodutor. Essas glândulas produzem enorme variedade de moléculas, principalmente proteínas e peptídeos, com diversas funções. Por exemplo, no ectoparasitoide *Nasonia vitripennis* (Walker), as glândulas de veneno podem conter mais de 70 componentes diferentes (Danneels et al., 2010). No caso dos ectoparasitoides (idiobiontes), os quais requerem imobilização do hospedeiro para proteger as larvas em desenvolvimento, os venenos geralmente têm efeito neurotóxico, que paralisa permanentemente o hospedeiro e impede o seu desenvolvimento. No caso dos endoparasitoides (cenobiontes), os efeitos dos venenos são múltiplos e estão relacionados com paralisias temporárias, redução ou supressão da resposta imune, modulação da produção de nutrientes mediante alteração das taxas metabólicas e mudanças no desenvolvimento do hospedeiro. Adicionalmente, em vários sistemas hospedeiro-parasitoide, principalmente em Braconidae, os venenos são associados a incremento dos efeitos dos vírus ou partículas virais injetadas no hospedeiro durante a oviposição (Asgari; Rivers, 2011).

A produção de vírus ou partículas semelhantes a vírus ocorre, assim como a produção de venenos, associada ao sistema reprodutor. Os vírus encontrados em parasitoides são de DNA de cadeia dupla, pertencem à família Polydnviridae e estão divididos em dois gêneros: *Bracovirus* e *Ichnovirus*. São denominados vírus de poli-DNA, porque os vírions possuem múltiplos segmentos de DNA circular com diferentes tamanhos. Esses vírus apresentam uma série de particularidades biológicas como a de estabelecer associação mutualística obrigatória com os parasitoides Braconidae (*Bracovirus*, encontrados em cerca de 50 mil espécies dessa família) e Ichneumonidae (*Ichnovirus*, associados a 14 mil espécies de parasitoides), que geralmente atacam lagartas de Lepidoptera.

Os vírus de poli-DNA apresentam um ciclo vital em duas vias e alternam entre dois tipos de hospedeiros (parasitoide e lagarta) (Stoltz, 1993). O vírus persiste no corpo do parasitoide como elementos virais endógenos incorporados ao DNA das células germinais ou somáticas e, dessa maneira, é transmitido verticalmente das fêmeas do parasitoide à progênie. Esses elementos virais são conhecidos como provírus (Stoltz, 1993) e possuem a capacidade de replicação formando vírions. A replicação ocorre nas células do cálix dos ovários, e os vírions passam ao lúmen do oviduto onde são armazenados. No momento da oviposição, o parasitoide injeta, junto com os ovos que possuem os elementos genéticos do vírus herdados da mãe, vírions e outros elementos, como os venenos já citados. Após colonizar as células das lagartas hospedeiras, nas quais não se replicam, a expressão dos genes virais tem como consequências principais a redução/supressão da resposta imune do hospedeiro, a alteração do crescimento do hospedeiro, em alguns casos alongando o período de

cada instar para permitir um bom desenvolvimento das larvas do parasitoide, e a modificação das taxas metabólicas para disponibilizar nutrientes ao parasitoide em desenvolvimento (Stoltz, 1993; Strand; Burke, 2013).

Finalmente, o terceiro mecanismo relacionado à regulação fisiológica dos hospedeiros é mediado por um tipo especial de células: os teratócitos. Essas células somente são relatadas nas famílias Braconidae e Platygasteridae e, como no caso dos parasitoides que contêm vírus de poli-DNA, estão presentes somente em endoparasitoides (Vinson, 1990). Os teratócitos se originam a partir da serosa, membrana externa que rodeia o vitelo e o embrião (em Braconidae), ou a partir da membrana extraembrionária presente em insetos com ovos pobres em vitelo (Braconidae: Aphidiinae e Platygasteridae) (Figura 1). Após a ruptura da serosa ou separação das células da membrana extraembrionária, a larva e várias células de grande tamanho (os teratócitos) são liberadas, e os teratócitos crescem no corpo do hospedeiro junto com a larva do parasitoide. Em espécies de Aphelinidae e Ichneumonidae, células similares a teratócitos foram descritas, mas com diferentes origens ou desenvolvimento (Strand, 2014). Em espécies de *Trichogramma* (Trichogrammatidae), foram relatadas esferas derivadas do ovo que teriam uma hipotética função digestiva, mas que claramente não são teratócitos (Boivin, 2010). Embora esse mecanismo de regulação hospedeira seja menos estudado que os venenos ou vírus de poli-DNA, está bem estabelecido que a função primária dos teratócitos é relacionada com a nutrição do parasitoide. Mediante a secreção de enzimas e outras proteínas específicas (Consoli et al., 2005), os teratócitos podem digerir extraoralmente tecidos e nutrientes do hospedeiro, e isso facilita sua incorporação pela larva do parasitoide em desenvolvimento (Strand, 2014). Outra função possível seria a alteração do crescimento do hospedeiro e da metamorfose mediante a secreção de proteínas que interferem na regulação da produção de hormônios que controlam esses processos (Strand, 2014). O outro efeito comprovado é a secreção de peptídeos antimicrobianos que poderiam assumir o controle de infecções por bactérias e fungos no corpo do hospedeiro (Burke; Strand, 2014).

PROGRAMAS DE CONTROLE BIOLÓGICO

Os parasitoides são inimigos naturais com ampla utilização no controle biológico, tanto no método clássico quanto no método aumentativo. Até 1990, os parasitoides representaram mais de 80% dos casos de sucesso de controle biológico para mais de 120 espécies de pragas-alvo no mundo. Nesse período, foram introduzidas 159 espécies de dípteros parasitoides da família Tachinidae e 1.317 espécies de hime-

nópteros parasitoides. Isso representa uma quantidade substancial em comparação às 478 espécies de predadores (Greathead; Greathead, 1992). Estima-se que essas proporções tenham sido mantidas no decorrer dos últimos anos, já que o número de espécies de pragas-alvo controladas pela introdução de inimigos naturais aumentou somente para 172 até o ano de 2010 (Cock et al., 2016).

No Brasil, a situação é parecida com a encontrada no mundo, já que a maioria dos casos de introdução de inimigos naturais foi de himenópteros parasitoides (Parra, 2014). Os dois primeiros casos de controle biológico clássico no Brasil foram com parasitoides da família Aphelinidae. Em 1921, foi introduzido *Encarsia berlesei* (Howard) para o controle da cochonilha-do-pessegueiro [*Pseudaulacaspis pentagona* (Targioni Tozzetti)]. O segundo caso ocorreu em 1923, com a introdução do parasitoide *Aphelinus mali* (Haldeman) para controle do pulgão lanígero-da-macieira [*Eriosoma lanigerum* (Hausmann)]. Ambos os programas tiveram sucesso e mantiveram as pragas sob controle (Parra et al., 2002).

Outro programa de sucesso no Brasil foi o de controle da cochonilha-das-pastagens, *Antonina gramini* (Maskell), pela introdução, em 1967, do parasitoide *Neodusmetia sangwani* (Subba Rao) (Parra et al., 2002). As introduções de parasitoides que resultaram em menor impacto no controle da praga-alvo foram as seguintes: *Prorops nasuta* Waterston (Hymenoptera: Bethyridae) em 1923, *Tetrastichus giffardianus* Silvestri (Hymenoptera: Eulophidae) em 1937, *Macrocentrus ancylivorus* Rohwer (Hymenoptera: Braconidae) em 1944 e *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) em 1974, para o controle de *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae), *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae), *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae) e *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae), respectivamente (Parra, 2014).

A partir da década de 1980, os programas de controle biológico que merecem destaque no Brasil são as introduções de parasitoides da família Braconidae, de 1989 a 1992, para o controle dos pulgões-do-trigo (Salvador; Salles, 2002); de parasitoides da família Encyrtidae para o controle do minador-dos-citros, *Phyllocnistis citrella* Stainton, em 1988 (Chagas et al., 2002); e da cochonilha-da-mandioca, *Phenacoccus herreri* Cox & Williams, em 1994-1996 (Bento et al., 2002), e do braconídeo *Xenostigmus bifasciatus* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) para o controle dos pulgões-do-pínus, *Cinara* spp., em 2002 e 2003 (Reis-Filho et al., 2004).

O uso comercial de inimigos naturais em larga escala para o controle biológico aumentativo teve início na década de 1960 (Van Lenteren, 2003), embora o primeiro registro de comercialização de parasitoides date de 1902, com a introdução de *Metaphycus lounsburyi* (Howard) para o controle de cochonilhas (Van Lenteren, 2012).

No ano de 2016, o mercado mundial de inimigos naturais foi estimado em pouco mais de US\$ 2,5 bilhões, o que correspondeu a 3%-4% do mercado de pesticidas (Biological..., 2017). Nesse contexto, os himenópteros parasitoides compreendem cerca de 52% das mais de 230 espécies de inimigos naturais comercializados para o controle biológico aumentativo no mundo (Van Lenteren, 2012).

O controle biológico aumentativo no Brasil está em plena expansão. Um dos principais programas é o do controle biológico da broca-da-cana, *D. saccharalis*, que ocupa hoje uma área de aproximadamente 3 milhões de hectares (Van Lenteren; Bueno, 2003; Parra, 2014). O parasitoide *C. flavipes*, de origem asiática, foi introduzido no Brasil. Embora o parasitoide tenha se estabelecido nas regiões de introdução, o seu crescimento populacional não foi suficiente para causar impacto significativo na população da praga. Dessa forma, a estratégia para seu uso no controle biológico consiste na criação em insetários comerciais e na liberação anual de maneira inundativa para o controle da broca-da-cana-de-açúcar (Garcia et al., 2009). A utilização de parasitoides do gênero *Trichogramma* Westwood também merece destaque. Parra e Zucchi (2004) destacam o uso com sucesso de liberações inundativas de *Trichogramma pretiosum* Riley para o controle de *Tuta absoluta* (Meyrick) em tomateiro, de *Alabama argillacea* (Hübner) em algodoeiro, e de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner e *T. pretiosum* para o controle de *Spodoptera frugiperda* (Smith) em milho. Além disso, Parra (2014) relata a utilização, em 2010, de *Trichogramma galloi* Zucchi em 500 mil hectares de cana-de-açúcar para o controle da broca-da-cana.

VANTAGENS E LIMITAÇÕES

O sucesso dos parasitoides em programas de controle biológico de pragas se deve, principalmente, à sua capacidade de adaptação aos mais diversos agroecossistemas e às formas de manejo, tanto em controle biológico clássico como no aumentativo.

Embora diferentes autores tenham feito esforços para estabelecer as características dos parasitoides de maior relevância para o controle biológico, a seleção dessas características é fortemente influenciada pela bioecologia dos insetos herbívoros, pelas características específicas da relação hospedeiro-parasitoide e pelas diferentes estratégias de controle biológico.

Assim, um parasitoide partenogenético pode ser de grande utilidade em programas de produção massal para controle biológico aumentativo. Mas essa mesma característica pode ser um empecilho para programas de controle biológico clássico

ou conservativo. A redução da variabilidade genética das populações, ao produzir descendentes que são clones das fêmeas, pode diminuir a capacidade de adaptação do parasitoide diante das variações climáticas, da paisagem, do próprio hospedeiro, entre outros fatores.

Um parasitoide pré-ovigênico pode ser útil em sistemas de monoculturas em que exista oferta menor de fontes alternativas de alimento para os adultos. Entretanto, comparados aos parasitoides sinovigênicos, os pré-ovigênicos possuem fecundidade menor, de maneira que seu impacto nas populações de pragas pode ser menor. Aspectos comportamentais devem ser considerados também. Por exemplo, em ambientes heterogêneos e para controle de uma praga polífaga, parasitoides que respondem fortemente a voláteis de plantas e com capacidade de adaptação a novos estímulos, mediante aprendizado associativo, podem ser mais eficientes que os que não possuem tais características.

Segundo Van Lenterenn (2009), algumas características são desejáveis para todas as formas de liberação, tanto inoculativa, no controle biológico clássico, quanto inoculativa sazonal ou inundativa, no controle biológico aumentativo (Tabela 4). A sincronização sazonal com o hospedeiro é importante para o tipo de liberação em que se espera que o parasitoide se estabeleça na área e exerça o controle da praga sem a necessidade de novas liberações, como na inoculativa em controle biológico clássico. Quando as liberações são realizadas sempre que necessárias, essa sincronização passa a não ter relevância. A sincronização interna com o hospedeiro diz respeito à habilidade do parasitoide em se desenvolver até a fase adulta no hospedeiro.

Tabela 4. Características desejáveis (+) e não importantes (-) de parasitoides de acordo com o tipo de liberação no ambiente.

Característica	Tipo de liberação		
	Inoculativa	Inoculativa sazonal	Inundativa
Sincronização sazonal com o hospedeiro	+	-	-
Sincronização interna com o hospedeiro	+	+	-
Boa resposta à densidade	+	+	+
Sem efeito ambiental negativo	+	+	+
Método de criação/produção eficiente	-	+	+
Especificidade hospedeira	+	-	-
Potencial reprodutivo elevado	+	+	-
Adaptação climática	+	+	+
Habilidade competitiva	+	+	-

Fonte: Adaptado de Van Lenteren (2009).

Ela é desejável para as liberações inoculativa e inoculativa sazonal, já que, em ambas, espera-se que o parasitoide exerça o controle da praga por várias gerações. Como na liberação inundativa só é necessário a eliminação momentânea do hospedeiro, não se torna limitante a sincronização interna parasitoide/hospedeiro, mas, se o inimigo natural só mata o hospedeiro e não se desenvolve até a fase adulta, haverá necessidade de múltiplas liberações. É importante que o parasitoide tenha boa resposta à densidade do hospedeiro, de forma que, tanto em baixas quanto em altas densidades do hospedeiro, o impacto do parasitoide na mortalidade e, conseqüentemente, no crescimento populacional do hospedeiro seja similar. De forma análoga, o parasitoide não pode apresentar riscos para espécies nativas ou para outros inimigos naturais. Nesse caso, a existência de impactos ambientais negativos pode ser limitante para a utilização de espécies de parasitoides em programas de controle biológico, seja porque atuam como hiperparasitoides seja porque demonstram grande impacto na fauna nativa por competição, predação ou parasitismo.

O custo da criação do inimigo natural é fundamental para o controle biológico aumentativo. A utilização de espécies de parasitoides que tenham um método prático e econômico de produção é fundamental para os casos de liberação inoculativa sazonal e inundativa. Já para o controle biológico clássico, essa característica é menos importante, uma vez que se espera criar o parasitoide por poucos anos até que esse se estabeleça na área de introdução.

O espectro de hospedeiros (especificidade), a adaptação climática e a habilidade competitiva serão discutidos nos itens a seguir.

Espectro de hospedeiros

A especificidade é uma das características mais importantes para o sucesso dos parasitoides como agentes de controle biológico. Essa característica é muito desejável em um inimigo natural que será introduzido no controle biológico clássico, pois os riscos de efeitos indesejáveis, como o impacto na fauna nativa, são atenuados. De maneira geral, considera-se os himenópteros parasitoides como inimigos naturais especialistas, quando comparados com predadores, fungos e bactérias entomopatogênicos e com dípteros parasitoides.

É indiscutível que a especificidade do inimigo natural é importante para reduzir o risco de impacto na fauna nativa em controle biológico clássico. Quanto menor for a gama de hospedeiros do parasitoide, maior a segurança para espécies não alvo. Os generalistas poderiam reduzir as populações de insetos nativos em áreas naturais ou mesmo não se manterem no mesmo habitat da praga-alvo, a fim de reduzir o

potencial de controle. Porém, é mais fácil o estabelecimento em uma nova área para generalistas, pois esses podem utilizar várias espécies como presas ou hospedeiros.

O controle biológico conservacionista baseia-se no aumento da diversidade vegetal para aumentar os recursos alimentares para os inimigos naturais e manter uma grande população de predadores e parasitoides no ambiente agrícola antes de a praga-alvo se estabelecer. O aumento de recursos como o pólen e o néctar das plantas favorece a manutenção dos inimigos naturais. Além disso, ocorre o aumento do número de espécies fitófagas, as quais podem servir de presas e hospedeiros alternativos para eles. Nesse caso, os generalistas são mais beneficiados do que os especialistas com o aumento do recurso alimentar. Embora os parasitoides especialistas possam ser beneficiados pelo pólen e pelo néctar, terão menores benefícios com o aumento das espécies de fitófagos, já que possuem gama hospedeira mais estreita do que os generalistas.

O controle biológico aumentativo demanda grandes quantidades de inimigos naturais para a liberação nos cultivos agrícolas. Para isso, a criação em laboratório é um fator-chave para o sucesso do controle biológico. Quanto mais fácil e menor for o custo de criação do inimigo natural, maior será a chance de sucesso para o controle aumentativo. Parasitoides com pequena gama de hospedeiros podem resultar em poucas possibilidades para a criação, pois se limitam a utilização de hospedeiros alternativos. Por sua vez, insetos generalistas podem ser mantidos no hospedeiro ou presa com menor custo de criação, ou naquele que proporcione o método mais adequado para a biofábrica. Por exemplo, os parasitoides de ovos de lepidópteros do gênero *Trichogramma* Westwood são criados em ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller). Vários outros predadores generalistas podem ser criados com esses ovos, como os crisopídeos e percevejos do gênero *Orius* Wolff. Dessa forma, toda a estrutura física, dieta e mão de obra utilizada para a produção de ovos para os parasitoides podem ser aproveitadas para a criação desses predadores, o que reduz o custo e facilita a manutenção dos inimigos naturais em laboratório.

Características bioecológicas

As características biológicas podem ser úteis para comparar espécies de inimigos naturais, visando selecionar o mais efetivo, e comparar os inimigos naturais e as pragas-alvo. A situação ideal é aquela em que o inimigo natural tem maior potencial de crescimento populacional do que a praga, a fim de responder eficientemente às variações de densidades dos organismos-alvo do controle. Os aspectos biológicos normalmente considerados na avaliação dos parasitoides são os seguintes: a sobrevivência e o período de desenvolvimento, avaliados para as fases imaturas, e a

fecundidade, a longevidade e a razão sexual dos parasitoides adultos. A avaliação desses aspectos biológicos separadamente pode fornecer informação em relação ao potencial do parasitoide como agente de controle biológico. Porém, a utilização de índices da tabela de vida de fertilidade, como a taxa líquida de reprodução (R_0) e a taxa líquida de aumento populacional (r_m), pode ser mais interessante, pois associam várias dessas características biológicas e permitem a modelagem da dinâmica populacional em diferentes situações ambientais e de densidade da praga e dos competidores.

A fecundidade alta é uma característica muito desejada em inimigos naturais, pois reflete no aumento populacional das espécies. No caso dos parasitoides, por atuarem como fator de mortalidade, a fecundidade está diretamente relacionada com a redução populacional do hospedeiro. Entretanto, a fecundidade precisa ser avaliada em associação com a longevidade e com o índice ovigênico do parasitoide. Os parasitoides com limitação de ovos podem ter alta fecundidade, mas, em razão de seu baixo índice ovigênico, demandam muito tempo e energia durante sua vida adulta para atingirem sua fecundidade total. A inexistência de alimento para os adultos desses parasitoides pode comprometer a eficiência de controle da praga. Dessa forma, o fornecimento de pólen e néctar, como estratégia do controle biológico conservacionista para aumentar a longevidade dos inimigos naturais, pode favorecer de forma mais acentuada os parasitoides com limitação de ovos. Já os parasitoides com limitação de tempo têm índice ovigênico alto, pois apresentam grande número de ovos disponíveis por dia. Dessa forma, para atingirem sua fecundidade total, dependem de encontrar seus hospedeiros, o que pode não ocorrer, já que, normalmente, têm longevidade curta. Nesse caso, espera-se que o fornecimento de alimento para os adultos de parasitoides com limitação de tempo não tenha tanto impacto no controle biológico.

Considera-se o menor período de desenvolvimento como a melhor estratégia para os insetos. Isso diminui a exposição às intempéries e aos seus inimigos naturais, além de encurtar o ciclo vital. Em parasitoides, o desenvolvimento mais rápido de imaturos reduz o tempo generacional e a exposição a riscos de mortalidade e aumenta a taxa de crescimento. Outro aspecto biológico importante é a razão sexual do inimigo natural. Quanto maior for a proporção de fêmeas, maior o potencial de aumento da população do inimigo natural. Como a efetividade de controle depende da oviposição, a razão sexual tem importância ainda maior para esse grupo de inimigos naturais.

O uso da taxa líquida de reprodução e, principalmente, da taxa líquida de aumento populacional agrupa os aspectos biológicos nesses índices que permitem a comparação dos inimigos naturais e das pragas-alvo. Em parasitoides, como a fecundidade se traduz em eliminação direta da praga-alvo, a utilização dessas taxas é ainda

mais interessante. As taxas líquidas de reprodução e de aumento populacional podem ser calculadas, respectivamente, pelas seguintes equações (Andrewartha; Birch, 1954):

$$Ro = \sum(mx \times lx) \quad (1)$$

$$r_m = \ln(Ro) / T \quad (2)$$

em que:

Ro = taxa líquida de reprodução (número total de descendentes femininas/fêmea).

mx = fertilidade específica [número de descendentes femininas/fêmea numa idade específica num determinado intervalo de tempo (ex.: dia) ou classe de idade (ex.: estágio)].

lx = probabilidade de sobrevivência (proporção de indivíduos sobreviventes em determinado intervalo de tempo ou classe de idade).

r_m = taxa líquida de aumento populacional (adimensional).

T = intervalo médio entre gerações (ex.: dia).

O tempo entre nascimento das ninfas de uma geração e da seguinte é determinado por:

$$T = (\sum mx \times lx \times x) / \sum(mx \times lx) \quad (3)$$

em que:

x = intervalo de idade (idade em um determinado intervalo de tempo ou classe de idade).

Uma simplificação dos cálculos das taxas líquidas de reprodução e de aumento populacional pode ser obtida com as seguintes equações (Brooijmans; Van Lenteren, 1997):

$$Ro = v \times f \times s \quad (4)$$

$$r_m = \ln(Ro) / t_{50\%} \quad (5)$$

em que:

v = viabilidade da fase imatura (proporção de sobreviventes ao completarem a fase imatura).

f = fecundidade total (número total de descendentes/fêmea).

s = razão sexual (proporção de descendentes do sexo feminino em relação à descendência total).

$t_{50\%}$ = intervalo de tempo do nascimento até que a fêmea atinja metade de sua fecundidade total (ex.: dia).

De maneira geral, entende-se que, quanto maior forem as taxas líquidas de reprodução e de aumento populacional, maior será o potencial de controle do inimigo natural. Para o controle biológico clássico e o inoculativo sazonal, o inimigo natural deve ter taxa líquida de aumento populacional maior ou igual ao da praga-alvo para que se tenha sucesso no controle (Van Lenteren, 2009). Entretanto outros autores estabelecem que outros fatores, como competição intra e interespecífica e efeito Allee, podem ser determinantes na dinâmica das relações hospedeiro-parasitoide (Hassell, 2000; Bompard et al., 2013).

Adaptação climática

A utilização de inimigos naturais adaptados às condições climáticas locais é fundamental para o sucesso do controle biológico, principalmente para o controle biológico clássico e o aumentativo, com liberação inundativa sazonal. Em controle biológico clássico, deve-se estar atento se as condições climáticas do local de origem do inimigo natural são semelhantes ou compatíveis com as da região em que será introduzido. Entre os fatores climáticos, um dos principais a atuar sobre a população dos insetos é a temperatura (Hallman; Denlinger, 1998). É importante que se conheça a resposta do inimigo natural a diferentes temperaturas e que sejam conhecidas as temperaturas favoráveis e desfavoráveis ao seu desenvolvimento. Para isso, ensaios em temperaturas constantes são úteis para a determinação do período de desenvolvimento (D), da taxa de desenvolvimento ($1/D$) e da porcentagem de sobrevivência em diferentes temperaturas.

A taxa de desenvolvimento dos insetos é definida como a resposta ao seu período de desenvolvimento. A relação entre essa taxa e a temperatura é sigmoide, apresentando relação linear na região central, que representa a faixa de temperatura na qual os insetos encontram condições favoráveis ótimas (2) para o seu desenvolvimento (Figura 2A). As porções inicial (1) e final (3) representam as faixas de temperatura em que as condições são subótimas (Campbell et al., 1974). A sobrevivência dos insetos é alta na faixa 2 e baixa nas faixas 1 e 3 (Figura 2B) (Liu et al., 1995). Com isso, é possível comparar as condições de temperatura favoráveis e desfavoráveis dos

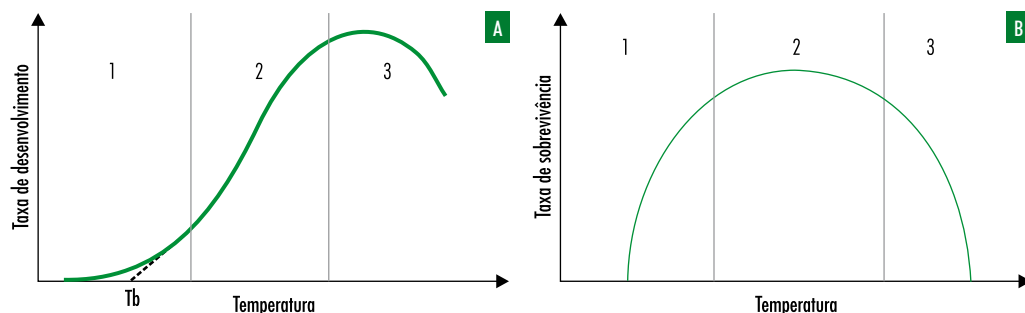


Figura 2. Relações entre a taxa de desenvolvimento dos insetos ($1/D$) e a temperatura do ambiente (A) e entre a taxa de sobrevivência dos insetos e a temperatura ambiente (B), em que “1” é a porção inicial com as faixas de temperatura baixas desfavoráveis para os insetos, “2” a porção mediana (linear) com as faixas de temperatura favoráveis para os insetos, “3” a porção final com as faixas de temperatura altas desfavoráveis para os insetos e T_b a temperatura base inferior.

Fonte: Adaptado de Campbell et al. (1974) e Liu et al. (1995).

inimigos naturais e das pragas, visando determinar as épocas do ano e as regiões em que cada espécie de parasitoide pode ser utilizada.

A temperatura base inferior (T_b) é aquela em que o inseto tem o seu desenvolvimento paralisado por causa da baixa temperatura. É difícil determinar a T_b diretamente em razão da alta mortalidade que os insetos apresentam quando submetidos a temperaturas constantes próximas a sua T_b . No entanto, é possível estimá-la, e um dos métodos mais simples é o da hipérbole. Para isso, é necessário determinar o período de desenvolvimento do inseto em, pelo menos, quatro temperaturas constantes e que se encontrem na faixa linear (2) da curva sigmoide. Extrapolando a porção linear da curva, até que ela atinja o eixo das temperaturas, encontra-se a estimativa da T_b dos insetos (Campbell et al., 1974; Trudgill et al., 2005; Bergant; Trdan, 2006). A T_b é um indicador da adaptabilidade dos insetos à temperatura, podendo ajudar na detecção de espécies e populações de parasitoides mais ajustados a certas condições climáticas, já que insetos oriundos de regiões onde a temperatura média é mais alta apresentam maior temperatura base do que aqueles adaptados às regiões frias (Trudgill et al., 2005; Damos; Savopoulou-Soultani, 2012).

No Brasil, por se tratar de um país continental, são encontradas variações significativas na temperatura e no regime de chuvas entre as regiões, além das constantes mudanças climáticas pelas quais o planeta está passando. Dessa forma, uma espécie de parasitoide que tenha ampla tolerância às temperaturas extremas pode ser utilizado no controle biológico de pragas em diferentes regiões climáticas e épocas do ano. Por isso, ao pensar em um programa de controle biológico, a situação ideal para a seleção de inimigos naturais seria dispor de espécies que apresentem tolerância maior às variações climáticas.

Habilidade competitiva

As redes tróficas naturais se organizam de forma que cada elemento (espécie) de um nível trófico sustente mais de uma espécie do nível trófico superior. Assim, uma espécie particular pode atuar como hospedeiro de várias espécies de parasitoides. Além disso, as populações dos hospedeiros flutuam em número no tempo e no espaço. Dessa forma, é inevitável a competição entre espécies de parasitoides, principalmente quando o hospedeiro se encontra em populações com densidade de indivíduos baixa.

A competição entre parasitoides pode se dar em dois níveis. No primeiro, há competição entre as fêmeas pelos locais de oviposição (hospedeiros) (competição extrínseca) e, no segundo, entre os imaturos que se desenvolvem num mesmo hospedeiro (competição intrínseca) (Godfray, 1994; Cusumano et al., 2016). Fatores como o número de ovos por fêmea e sua capacidade de busca são utilizados para avaliar o potencial competitivo de fêmeas adultas (Cusumano et al., 2016). No caso da competição intrínseca, os mecanismos de eliminação do competidor envolvem injeção de toxina ou partículas virais pela fêmea durante a oviposição e o ataque físico ou supressão fisiológica pelas larvas competidoras (Vinson; Wantsch, 1980; Mackauer, 1990; Godfray, 1994; Harvey et al., 2013; Cusumano et al., 2016). A presença de simbiotes do hospedeiro pode alterar a competição intrínseca. Segundo McLean e Godfray (2017), a presença da bactéria *Hamiltonella defensa* no pulgão *Acyrtosiphon pisum* (Harris) inverteu o resultado da competição entre larvas dos parasitoides *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Braconidae) e *Aphelinus abdominalis* (Dalman) (Hymenoptera: Aphelinidae). O simbiote reduziu a formação de múmias de ambas as espécies de parasitoides, mas, na ausência da bactéria, *A. abdominalis* foi superior (96% de mumificação) a *A. ervi* (2% de mumificação) em hospedeiros multiparasitados. Já quando o pulgão *A. pisum* continha o simbiote *H. defensa*, o resultado foi inverso, pois não houve formação de múmias de *A. abdominalis*, e o parasitoide *A. ervi* foi superior na competição intrínseca (mumificou 44% dos pulgões multiparasitados).

Quanto maior a fecundidade e a capacidade de busca da fêmea do parasitoide, maior será o seu potencial competitivo extrínseco. Essas características são desejáveis nos parasitoides utilizados em controle biológico. Porém, nem sempre o melhor competidor extrínseco será o que terá sucesso e se estabelecerá na área desejada, já que, muitas vezes, a competição intrínseca é a que determinará a espécie superior na competição. Por isso, a introdução de múltiplas espécies em controle biológico clássico pode levar ao estabelecimento da espécie de parasitoide com menor potencial reprodutivo e, por sua vez, a que exerce a menor proporção de controle da praga-alvo (Briggs, 1993). A mesma situação pode ocorrer em controle biológico aumentativo, com liberação inoculativa sazonal. Dessa forma, a competição entre os parasitoides pode ter relação direta com a efetividade do controle.

REFERÊNCIAS

- ANDREWARTHA, H. G.; BIRCH, L. C. Weather: temperature. In: ANDREWARTHA, H. G.; BIRCH, L. C. **The distribution and abundance of animals**. Chicago: University of Chicago, 1954. p. 31-54.
- ASGARI, S.; RIVERS, D. B. Venom proteins from endoparasitoid wasps and their role in host-parasite interactions. **Annual Review of Entomology**, v. 56, p. 313-35, Jan. 2011. DOI: 10.1146/annurev-ento-120709-144849.
- ASKEW, R. R.; SHAW, M. R. Parasitoid communities: their size, structure and development. In: WAAGE, J. K.; GREATHEAD, D. (Ed.). **Insect parasitoids**. London: Academic, 1986. p. 225-259.
- BELSHAW, R.; GRAFEN, A.; QUICKE, D. L. J. Inferring life history from ovipositor morphology in parasitoid wasps using phylogenetic regression and discriminant analysis. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 139, n. 2, p. 213-228, 2003. DOI: 1096-3642.2003.00078.x.
- BENTO, J. M.; MORAES, G. J.; MATOS, A. P.; WARUMBY, J. F.; BELOTTI, A. C. Controle biológico da cochonilha da mandioca no Nordeste do Brasil. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. (Coord.). **Controle biológico no Brasil: predadores e parasitoides**. São Paulo: Manole, 2002. p. 395-408.
- BERGANT, K.; TRDAN, S. How reliable are thermal constants for insect development when estimated from laboratory experiments? **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 120, p. 251-256, Mar. 2006.
- BERNSTEIN, C.; JERVIS, M. A. Food-searching in parasitoids: the dilemma of choosing between 'immediate' or future fitness gains. In: WAJNBERG, E.; BERNSTEIN, C.; VAN ALPHEN, J. J. M. (Ed.). **Behavioral ecology of insect parasitoids: from theoretical approaches to field applications**. Oxford: Blackwell, 2008. p. 129-171.
- BEUKEBOOM, L. W.; ZWAAN, B. J. Genetics. In: JERVIS, M. A. (Ed.). **Insects as natural enemies: a practical perspective**. Dordrecht: Springer, 2007. p. 167-218.
- BIOLOGICAL control market: global industry growth, trends and forecasts (2017 - 2022). 2017. Disponível em: <<https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/biological-control-market?gclid=CM2trpHlwtQCFYJehgod7UQH6Q>>. Acesso em: 16 jun. 2017.
- BOIVIN, G. Reproduction and immature development in egg parasitoids. In: CONSOLI, F. L.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on *Trichogramma***. Dordrecht: Springer, 2010. p. 1-24.
- BOMPARD, A.; AMAT, I.; FAUVERGUE, X.; SPATARO, T. Host-parasitoid dynamics and the success of biological control when parasitoids are prone to Allee effects. **PLOSone**, v. 18, p. 1-11, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0076768.
- BORGES, M.; COLAZZA, S.; RAMIREZ-LUCAS, P.; CHAUHAN, K. R.; MORAES, M. C. B.; ALDRICH, J. R. Kairomonal effect of walking traces from *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae) on two strains of *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platygasteridae). **Physiological Entomology**, v. 28, p. 349-355, Dec. 2003. DOI: 10.1111/j.1365-3032.2003.00350.x.
- BORGES, M.; COSTA, M. L. M.; SUJII, E. R.; CAVALCANTI, M. G.; REDIGOLO, G. F.; RESCK, I. S.; VILELA, E. F. Semiochemical and physical stimuli involved in host recognition by *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae) toward *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae). **Physiological Entomology**, v. 24, p. 227-233, 1999. DOI: 10.1046/j.1365-3032.1999.00136.x.
- BRIGGS, C. J. Competition among parasitoid species on a stage-structured host and its effect on host suppression. **The American Naturalist**, v. 141, p. 372-397, Mar. 1993.

- BRODEUR, J.; BOIVIN, G. Functional ecology of immature parasitoids. **Annual Review of Entomology**, v. 49, p. 27-49, 2004. DOI: 10.1146/annurev.ento.49.061703.153618.
- BROOIJMANS, C.; VAN LENTEREN, J. C. IPM in protected cultivation praticals. In: VAN LENTEREN, J. C. **Integrated pest management in protected cultivation**. Wageningen: Agricultural University Wageningen, 1997. p. 5-58.
- BURKE, G. R.; STRAND, M. R. Systematic analysis of a wasp parasitism arsenal. **Molecular Ecology**, v. 23, p. 890-901, Jan. 2014. DOI: 10.1111/mec.12648.
- CADE, W. H. Acoustically orientating parasitoids: fly phonotaxis to cricket song. **Science**, v. 190, n. 4221, p. 1312-1313, Dec. 1975. DOI: 10.1126/science.190.4221.1312.
- CAI, W.; YAN, Y.; LI, L. The earliest records of insect parasitoids in China. **Biological Control**, v. 32, p. 8-11, Jan. 2005. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2004.08.002.
- CAMPBELL, A.; FRAZER, B. D.; GILBERT, N.; GUTIERREZ, A. P.; MACKAUER, M. Temperature requirements of some aphids and their parasites. **The Journal of Applied Ecology**, v. 11, n. 2, p. 431-438, 1974.
- CHAGAS, M. C. M.; PARRA, J. R. P.; MILANO, P.; NASCIMENTO, A. M.; PARRA, A. L. G. C.; YAMAMOTO, P. T. *Ageniaspis citricola* criação e estabelecimento no Brasil. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. **Controle biológico no Brasil: predadores e parasitoides**. São Paulo: Manole, 2002. p. 377-394.
- COCK, M.; MURPHY, S.; KAIRO, M.; THOMPSON, E.; MURPHY, R.; FRANCIS, A. Trends in the classical biological control of insect pests by insects: an update of the BIOCAT database. **BioControl**, v. 61, n. 4, p. 349-363, Feb. 2016. DOI: 10.1007/s10526-016-9726-3.
- CÔNSOLI, F. L.; BRANDT, S. L.; COUDRON, T. A.; VINSON, S. B. Host regulation and release of parasitism-specific proteins in the system *Toxoneuron nigriceps* - *Heliothis virescens*. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, v. 142, n. 2, p. 181-191, Oct. 2005. DOI: 10.1016/j.cbpc.2005.07.002.
- COOK, J. M.; BUTCHER, R. D. J. The transmission and effects of *Wolbachia* bacteria in parasitoids. **Research on Population Ecology**, v. 41, p. 15-28, 1999.
- CRESPO, J. E.; CASTELO, M. K. The ontogeny of host-seeking behaviour in a parasitoid dipteran. **Journal of Insect Physiology**, v. 54, p. 842-847, May 2008. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2008.03.002.
- CUSUMANO, A.; PERI, E.; COLAZZA, S. Interspecific competition/facilitation among insect parasitoids. **Current Opinion in Insect Science**, v. 14, p. 12-16, 2016. DOI: 10.1016/j.cois.2015.11.006.
- DAMOS, P.; SAVOPOULOU-SOULTANI, M. Temperature-driven models for insect development and vital thermal requirements. **Psyche: A Journal of Entomology**, v. 2012, art. ID 123415, p. 1-13, 2012. DOI: 10.1155/2012/123405.
- DANNEELS, E. L.; DAVID, B.; RIVERS, D. B.; GRAAF, D. C. Venom proteins of the parasitoid Wasp *Nasonia vitripennis*: recent discovery of an untapped Pharmacopee. **Toxins**, v. 2, n. 4, p. 494-516, 2010. DOI: 10.3390/toxins2040494.
- DOUTT, R. L. The biology of parasite Hymenoptera. **Annual Review of Entomology**, v. 4, p. 161-82, 1959.
- EGGLETON, P.; BELSHAW, R. Comparisons of dipteran, hymenopteran and coleopteran parasitoids: provisional phylogenetic explanations. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 48, p. 213-226, Jan. 1993. DOI: 10.1111/j.1095-8312.1993.tb00888.x.
- EGGLETON, P.; BELSHAW, R. Insect parasitoids: an evolutionary overview. **Philosophical Transactions of the Royal Society**, v. 337, p. 1-20, 1992. DOI: 10.1098/rstb.1992.0079.
- EGGLETON, P.; GASTON, K. J. Parasitoid species and assemblages: convenient definitions or misleading compromises. **Oikos**, v. 59, n. 3, p. 417-421, 1990.

- FEENER, D. H.; BROWN, B. V. Diptera as parasitoids. **Annual Review of Entomology**, v. 42, p. 73-97, Jan. 1997. DOI: 10.1146/annurev.ento.42.1.73.
- FERNÁNDEZ, F.; SHARKEY, M. J. **Introducción a los Hymenoptera de la Región Neotropical**. Bogotá: Sociedad Colombiana de Entomología: Universidad Nacional de Colombia, 2006. 894 p.
- FLANDERS, S. Regulation of ovulation and egg disposal in the parasitic Hymenoptera. **The Canadian Entomologist**, v. 82, n. 6, p. 134-140, June 1950. DOI: 10.4039/Ent82134-6.
- GARCIA, J. F.; BOTELHO, P. S.; MACEDO, L. P. M. Criação do parasitóide *Cotesia flavipes* em laboratório. In: BUENO, V. H. P. **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. 2. ed. Lavras: Ed. da Ufla, 2009. p. 117-168.
- GAULD, I.; BOLTON, B. **The Hymenoptera**. Oxford: Oxford University, 2002. 331 p.
- GODFRAY, H. C. J. **Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology**. Princeton: Princeton University, 1994. 484 p.
- GOULET, H.; HUBER, J. T. **Hymenoptera of the world: an identification guide to families**. Ottawa: Research Branch Agriculture Canada Publication, 1993. 668 p.
- GREATHEAD, D. J.; GREATHEAD, A. H. Biological control of insect pests by insect parasitoids and predators: the BIOCOT database. **Biocontrol News and Information**, v. 13, n. 4, p. 61-68, 1992.
- GRIMALDI, D. A.; ENGEL, M. S. **Evolution of the insects**. New York: Cambridge University, 2005.
- GROSS, P. Insect behavioral and morphological defenses against parasitoids. **Annual Review of Entomology**, v. 38, p. 251-273, 1993.
- HALLMAN, G. J.; DENLINGER, D. L. Introduction: temperature sensitivity and integrated pest management. In: HALLMAN, G. J.; DENLINGER, D. L. **Temperature sensitivity in insects and application in integrated pest management**. Boulder: Westview, 1998. p. 1-5.
- HAMILTON, W. D. Extraordinary sex ratios. **Science**, v. 156, n. 3774, p. 477-488, 1967.
- HARDIE, N. F.; POWELL, W.; WADHAMS, L. J. Synthetic aphid sex pheromone lures female parasitoids. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 61, p. 97-99, 1991. DOI: 10.1111/j.1570-7458.1991.tb02401.x.
- HARVEY, J. A.; POELMAN, E. H.; TANAKA, T. Intrinsic inter- and intraspecific competition in parasitoid wasps. **Annual Review of Entomology**, v. 58, p. 333-351, Jan. 2013. DOI: 10.1146/annurev-ento-120811-153622.
- HASSELL, M. P. **The spatial and temporal dynamics of host-parasitoid interactions**. Oxford: Oxford University, 2000.
- HEIMPEL, G. E.; CASAS, J. Parasitoid foraging and oviposition behavior in the field. In: WAJENBERG, E.; BERESTEIN, C. van; ALPHEN, J. van (Ed.). **Behavioral ecology of insect parasitoids: from theoretical approaches to field applications**. Malden: Blackwell Publishing, 2008. p. 52-70.
- HEIMPEL, G. E.; DE BOER, J. G. Sex determination in the Hymenoptera. **Annual Review of Entomology**, v. 53, p. 209-230, Jan. 2008. DOI: 10.1146/annurev.ento.53.103106.093441.
- HRCEK, J.; MILLER, S. E.; WHITFIELD, J. B.; SHIMA, H.; NOVOTNY, V. Parasitism rate, parasitoid community composition and host specificity on exposed and semi-concealed caterpillars from a tropical rainforest. **Oecologia**, v. 173, n. 2, p. 521-532, Mar. 2013.
- JERVIS, M. A.; ELLERS, J.; HARVEY, J. A. Resource acquisition, allocation, and utilization in parasitoid reproductive strategies. **Annual Review of Entomology**, v. 53, p. 361-385, 2008. DOI: 10.1146/annurev.ento.53.103106.093433.

- JERVIS, M. A.; HEIMPEL, G. E.; FERNS, P. N.; HARVEY, J. A.; KIDD, N. A. C. Life-history strategies in parasitoid wasps: a comparative analysis of 'ovigeny'. **Journal of Animal Ecology**, v. 70, n. 3, p. 442-58, 2001. DOI: 10.1046/j.1365-2656.2001.00507.x.
- JERVIS, M. A.; KIDD, N. A. C. Host-feeding strategies in hymenopteran parasitoids. **Biological Reviews**, v. 61, p. 395-434, 1986. DOI: 10.1111/j.1469-185X.1986.tb00660.x.
- LACK, D. The significance of clutch-size. **Ibis**, v. 89, p. 302-352, 1947. DOI: 10.1111/j.1474 919X.1947.tb04155.x.
- LAUMANN, R. A.; AQUINO, M. F. S.; MORAES, M. C. B.; PAREJA, M.; BORGES, M. Response of the egg parasitoids *Trissolcus basal* and *Telenomus podisi* to compounds from defensive secretions of stink bugs. **Journal of Chemical Ecology**, v. 35, p. 8-19, Jan. 2009.
- LEWIS, W. J.; VET, L. E. M.; TUMLINSON, J. H.; LENTEREN, J. C. van; PAPA, D. R. Variations in parasitoid foraging behavior: essential element of a sound biological control theory. **Environmental Entomology**, v. 19, p. 1183-1193, Oct. 1990. DOI: 10.1093/ee/19.5.1183.
- LIU, S. S.; ZHANG, G. M.; ZHU, J. Influence of temperature variations on rate of development in insects: analysis of case studies from entomological literature. **Annals of Entomological Society of America**, v. 88, n. 2, p. 107-119, Mar. 1995. DOI: 10.1093/aesa/88.2.107.
- MACKAUER, M. Host discrimination and larval competition in solitary endoparasitoids. In: MACKAUER, M.; EHLER, L. E.; ROLAND, J. **Critical issues in biological control**. Andover: Intercept, 1990. p. 41-62.
- MAYHEW, P. J.; BLACKBURN, T. M. Does development mode organize life-history traits in parasitoid Hymenoptera? **Journal of Animal Ecology**, v. 68, p. 906-916, 1999. DOI: 10.1046/j.1365-2656.1999.00338.x.
- MCLEAN, A. H. C.; GODFRAY, H. C. J. The outcome of competition between two parasitoid species is influenced by a facultative symbiont of their aphid host. **Functional Ecology**, v. 31, n. 4, p. 927-933, 2017. DOI: 10.1111/1365-2435.12781.
- MEYHÖFER, R.; CASAS, J.; ORN, S. Vibration-mediated interactions in a host-parasitoid system. **Proceedings of the Royal Society of London, Series B**, v. 264, p. 261-266, Feb. 1997. DOI: 10.1098/rspb.1997.0037.
- MILLS, N.; WAJNBERG, E. Optimal foraging behavior and efficient biological control methods. In: WAJNBERG, E.; BERNSTEIN, C.; VAN ALPHEN, J. J. M. (Ed.). **Behavioral ecology of insect parasitoids: from theoretical approaches to field applications**. Oxford: Blackwell Publishing, 2008.
- NOLDUS, L. P. J. J.; LENTEREN, J. C. van. Kairomones for the egg parasite *Trichogramma evanescens* Westwood II. Effect of contact chemicals produced by two of its hosts, *Pieris brassicae* L. and *Pieris rapae* L. **Journal of Chemical Ecology**, v. 11, n. 6, p. 793-800, June 1985.
- ODE, P. J.; HARDY, I. C. W. Parasitoid sex ratios and biological control. In: WAJNBERG, E.; BERNSTEIN, C.; VAN ALPHEN, J. J. M. (Ed.). **Behavioral ecology of insect parasitoids: from theoretical approaches to field applications**. Oxford: Blackwell Publishing, 2008. p. 253-291.
- OLIVER, K. M.; RUSSELL, J. A.; MORAN, N. A.; HUNTER, M. S. Facultative bacterial symbionts in aphids confer resistance to parasitic wasps. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 100, n. 4, p. 1803-1807, Feb. 2003. DOI: 10.1073/pnas.0335320100.
- PARRA, J. R. P. Biological control in Brazil: an overview. **Scientia Agricola**, v. 71, n. 5, p. 345-355, Sept./Oct. 2014. DOI: 10.1590/0103-9016-2014-0167.
- PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. Controle biológico: terminologia. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. **Controle biológico no Brasil: predadores e parasitoides**. São Paulo: Manole, 2002. p. 1-16.

- PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. *Trichogramma* in Brazil: feasibility of use after twenty years of research. **Neotropical Entomology**, v. 33, n. 3, p. 271-281, May/June 2004. 10.1590/0103-9016-2014-0167.
- PAUL, A. V. N.; SINGH, S.; SINGH, A. K. Kairomonal effect of some saturated hydrocarbons on the egg parasitoids, *Trichogramma brasiliensis* (Ashmead) and *Trichogramma exiguum*, Pinto, Platner and Oatman (Hym. Trichogrammatidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 126, p. 409-416, Sept. 2002. DOI: 10.1046/j.1439-0418.2002.00661.x.
- PENNACCHIO, F.; STRAND, M. R. Evolution of developmental strategies in parasitic Hymenoptera. **Annual Review of Entomology**, v. 51, p. 233-58, Jan. 2006. DOI: 10.1146/annurev.ento.51.110104.151029.
- QUICKE, D. L. J. Idiobionts, koinobionts and other life history traits. In: QUICKE, D. L. J. (Ed.). **The Braconid and Ichneumonid parasitoid wasps: biology, systematics, evolution and ecology**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2015. p. 87-105.
- QUICKE, D.; LERALEC, A.; VILHELMSSEN, L. Ovipositor structure and function in the parasitic Hymenoptera with an exploration of new hypotheses. **Atti della Accademia Nazionale Italiana di Entomologia**, v. 47, p. 197-239, 1999.
- REIS-FILHO, W.; PENTEADO, S. do R. C.; IEDE, E. T. **Controle biológico de pulgão-gigante-do-pinus, *Cinara atlantica* (Hemiptera: Aphididae) pelo parasitóide, *Xenostigmus bifasciatus* (Hymenoptera: Braconidae)**. Colombo: Embrapa Floresta, 2004. (Embrapa Florestas. Comunicado técnico, 122). 3 p.
- RIVERO, A.; WEST, S. A. The costs and benefits of host feeding in parasitoids. **Animal Behaviour**, v. 69, p. 1293-1301, 2005. DOI: 10.1016/j.anbehav.2004.10.008.
- ROMANI, R.; ISIDORO, N.; BIN, F. Antennal structure use in communication by egg parasitoids. In: CÔNSOLI, F. L.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on *Trichogramma***. London: Springer, 2010. p. 57-96.
- ROSENHEIM, J. A.; HEIMPEL, G. E.; MANGEL, M. Egg maturation, egg resorption and the costliness of transient egg limitation in insects. **Proceedings of the Royal Society of London, Series B**, v. 267, p. 1565-1573, 2000. DOI: 10.1098/rspb.2000.1179.
- RUSCHIONI, S.; VAN LOON, J. J. A.; SMID, H. M.; VAN LENTEREN, J. C. Insects can count: sensory basis of host discrimination in parasitoid wasps revealed. **PLoS ONE**, v. 10, n. 10, p. e0138045, Oct. 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0138045.
- RUSSELL, J. E.; STOUTHAMER, R. The genetics and evolution of obligate reproductive parasitism in *Trichogramma pretiosum* infected with parthenogenesis-inducing *Wolbachia*. **Heredity**, v. 106, p. 58-67, May 2010.
- SALVADORI, J. R.; SALLES, L. A. B. Controle biológico dos pulgões do trigo. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. **Controle biológico no Brasil: predadores e parasitoides**. São Paulo: Manole, 2002. p. 427-448.
- SEGOLI, M.; HARARI, A. R.; ROSENHEIM, J. A.; BOUSKILA, A.; KEASAR, T. The evolution of polyembryony in parasitoid wasps. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 23, p. 1807-1819, July 2010. DOI: 10.1111/j.1420-9101.2010.02049.x.
- SHARKEY, M. J. Phylogeny and classification of Hymenoptera. **Zootaxa**, v. 1668, p. 521-548, 2007.
- STEIDLE, J. L. M.; VAN LOON, J. J. A. Chemoecology of parasitoid and predator oviposition behaviour. In: HILKER, M.; MEINERS, T. (Ed.). **Chemoecology of insect eggs and egg deposition**. Berlin: Blackwell Publishing, 2002. p. 291-317.

- STEIDLE, J. L. M.; VAN LOON, J. J. A. Dietary specialization and infochemical use in carnivorous arthropods: testing a concept. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 108, p. 133-148, Aug. 2003. DOI: 10.1046/j.1570-7458.2003.00080.x.
- STOLTZ, D. B. The polydnavirus life cycle. In: BECKAGE, N. E.; THOMPSON, S. N.; FEDERICI, B. A. (Ed.). **Parasites and pathogens of insects**. London: Academic, 1993. p. 167-187.
- STOUTHAMER, R.; BREEUWER, J. A. HURST, G. D. *Wolbachia pipientis*: microbial manipulator of arthropod reproduction. **Annual Review of Microbiology**, v. 53, p. 71-102, 1999. DOI: 10.1146/annurev.micro.53.1.71.
- STRAND, M. R. Polyembryony. In: CARDE, R. T.; RESCH, V. H. (Ed.). **Encyclopedia of Insects**. San Diego: Academic Press, 2003. p. 928-932.
- STRAND, M. R. Teratocytes and their functions in parasitoids. **Current Opinion in Insect Science**, v. 6, p. 68-73, Dec. 2014. 10.1016/j.cois.2014.09.005.
- STRAND, M. R.; BURKE, G. R. Polydnavirus-wasp associations: evolution, genome organization, and function. **Current Opinion in Virology**, v. 3, n. 5, p. 587-594, Oct. 2013. DOI: 10.1016/j.coviro.2013.06.004.
- STRAND, M. R.; CASAS, J. Parasitoid and host nutritional physiology in behavioral ecology. In: WAJNBERG, E.; BERNSTEIN, C.; ALPHEN, J. van (Ed.). **Behavioral ecology of parasitoids: from theoretical approaches to field applications**. London: Blackwell Publishing, 2008. p. 113-128.
- TRUDGILL, D. L.; HONEK, A.; LI, D.; VAN STRAALLEN, D. M. Thermal time: concepts and utility. **Annals of Applied Biology**, v. 146, n. 1, p. 1-14, Feb. 2005. DOI: 10.1111/j.1744-7348.2005.04088.x.
- TURLINGS, T. C. J.; TUMLINSON, J. H.; LEWIS, W. J. Exploitation of herbivore-induced plant odors by host seeking parasitic wasps. **Science**, v. 250, n. 4985, p. 1251-1253, 1990. DOI: 10.1126/science.250.4985.1251.
- VAN ALPHEN, J. J. M.; VET, L. E. M. An evolutionary approach to host finding and selection. In: WAAGE, J.; GREATHEAD, D. (Ed.). **Insect parasitoids**. London: Academic Press, 1986. p. 23-61.
- VAN LENTEREN, J. C. Commercial availability of biological control agents. In: VAN LENTEREN, J. C. **Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures**. Berkshire: Biddles, 2003. p. 167-189.
- VAN LENTEREN, J. C. Critérios de seleção de inimigos naturais. In: BUENO, V. H. P. **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. Lavras: Ed. Ufla, 2009. p. 11-32.
- VAN LENTEREN, J. C. The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. **Biocontrol**, v. 57, n. 1, p. 1-20, 2012.
- VAN LENTEREN, J. C.; BUENO, V. H. P. Augmentative biological control of arthropods in Latin America. **Biocontrol**, v. 48, n. 2, p. 123-139, 2003.
- VAN LENTEREN, J. C.; GODFRAY, H. C. J. European science in the Enlightenment and the discovery of the insect parasitoid life cycle in The Netherlands and Great Britain. **Biological Control**, v. 32, p. 12-24, Jan. 2005. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2004.08.009.
- VET, L. E. M. Host-habitat location through olfactory cues by *Leptopilina clavipes* (Hartig) (Hym.: Figitidae), a parasitoid of fungivorous *Drosophila*: the influence of conditioning. **Netherland Journal of Zoology**, v. 33, n. 3, p. 225-248, 1983.
- VET, L. E. M.; DICKE, M. Ecology of infochemical use by natural enemies in a tri-trophic context. **Annual Review of Entomology**, v. 47, p.141-172, 1992.
- VET, L. E. M.; LEWIS, E. J.; PAPA, J. D. R.; VANLENTEREN, J. C. A variable-response model of parasitoid foraging behaviour. **Journal of Insect Behavior**, v. 3, n. 4, p. 471-490, July 1990.

VET, L. E. M.; LEWIS, W. J.; CARDÉ, R. T. Parasitoid foraging and learning. In: CARDÉ, R. T.; BELL, W. (Ed.). **Chemical ecology of insects 2**. London: Chapman and Hall, 1995. p. 65-101.

VET, L. E. M.; WACKERS, F. L.; DICKE, M. How to hunt for hiding hosts: the reliability-detectability problem in foraging parasitoids. **Netherland Journal of Zoology**, v. 41, n. 2-3, p. 202-213, 1991. DOI: 10.1163/156854291X00144.

VINSON, S. B. How parasitoids deal with the immune system of their host: an overview. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 13, p. 3-27, 1990. DOI: 10.1002/arch.940130103.

VINSON, S. B. The behaviour of parasitoids. In: KERKUT, G. A.; GILBERT, L. I. (Ed.). **Comprehensive insect physiology biochemistry and pharmacology**. New York: Pergamon, 1985. p. 417-469.

VINSON, S. B. The general host selection behavior of parasitoid Hymenoptera and a comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. **Biological Control**, v. 11, n. 2, p. 79-96, Febr.1998. DOI: 10.1006/bcon.1997.0601.

VINSON, S. B.; IWANTSCH, G. F. Host suitability for insect parasitoids. **Annual Review of Entomology**, v. 25, p. 397-419, 1980.

VORBURGER, C.; GEHRER, L.; RODRIGUEZ, P. A strain of the bacterial symbiont *Regiella insecticola* protects aphids against parasitoids. **Biology Letters**, v. 6, n. 1, p. 109-111, Sept. 2010. DOI: 10.1098/rsbl.2009.0642.

WERREN, J. H.; BALDO, L.; CLARK, M. E. *Wolbachia*: master manipulators of invertebrate biology. **Nature Reviews Microbiology**, v. 6, p. 741-751, 2008.

WERREN, J. H.; WINDSOR, D. M. *Wolbachia* infection frequencies in insects: evidence 318 of a global equilibrium? **Proceedings of the Royal Society of London, Series B**, v. 267, p. 1277-1285, July 2000. DOI: 10.1098/rspb.2000.1139.

WU, Z.; HOPPER, K. R.; ODE, P. J.; FUESTER, R. W.; JIAHUA, C.; HEIMPEL, G. E. Complementary sex determination in hymenopteran parasitoids and its implications for biological control. **Entomologia Sinica**, v. 10, n. 2, p. 81-93, June 2003. DOI: 10.1111/j.1744-7917.2003.tb00369.x.

CAPÍTULO 4

Controle de artrópodes-praga com insetos predadores

Edison Ryoiti Sujii
Carmen Silvia Soares Pires
Madelaine Venzon
Odair Aparecido Fernandes

A primeira referência ao uso de predadores no controle biológico indica que formigas *Oecophylla smaragdina* (Fabricius) (Hymenoptera: Formicidae) já eram utilizadas na China para controle de pragas em citros no século 3 (Coulson et al., 1982). Estratégia semelhante já era adotada no lêmên para controle de pragas em tâmara (Coulson et al., 1982), além de aranhas que, na Antiguidade, eram manipuladas para controle de pragas na China (Sparks et al., 1982). Verifica-se, portanto, que a utilização de predadores para controle de pragas não é recente. Os predadores devem ter sido os primeiros organismos a serem utilizados pelo homem para o controle biológico, provavelmente por causa de seu tamanho (geralmente, maiores que os parasitoides, por exemplo), bem como pela melhor compreensão do seu ciclo de vida.

Em 1735, Carl Linnaeus, na sua clássica publicação *Systema Naturae*, mencionou que todo inseto tem seu predador que o persegue e o destrói. O naturalista Darwin e outros entomologistas no século 19 também fizeram referência aos predadores e já sugeriam a utilização de sirfídeos (Diptera: Syrphidae) e joaninhas (Coleoptera: Coccinellidae) para controle de pulgões em cultivos conduzidos em casas de vegetação e em campo (Hörstadius, 1974).

A predação pode ser definida como qualquer interação entre dois indivíduos, na qual um deles (predador) se alimenta do outro (presa) com benefício para o predador e prejuízo para a presa do ponto de vista de acúmulo energético e de biomassa. Essa definição é suficientemente ampla e teórica para permitir a inclusão

de interações tróficas reconhecidamente diferentes. Segundo esse conceito mais amplo de predação, interações como parasitismo, parasitoidismo e herbivoria podem ser classificadas como formas especiais de predação, o que vai além do conceito clássico, que considera como predadores aqueles organismos que capturam, matam e se alimentam de várias presas ao longo do seu ciclo de vida (Tabela 1). Outra forma especial de predação é o canibalismo, que consiste em um tipo de interação em que indivíduos de uma espécie se alimentam de indivíduos jovens ou vulneráveis da mesma espécie de forma geralmente eventual e oportunista.

Neste capítulo, serão tratados como predadores de artrópodes-praga apenas os organismos efetivamente classificados na Tabela 1 como predadores, ou seja, aqueles que têm interação letal com suas presas e consomem vários espécimes delas ao longo de seu ciclo de vida. Embora com reconhecida importância para o controle biológico, todas as demais formas especiais de predação apresentadas na Tabela 1 não serão abordadas aqui, mas tratadas em outros capítulos deste livro.

Tabela 1. Classificação de diferentes tipos de insetos consumidores, em distintas interações tróficas, em função da quantidade relativa de presas consumidas ao longo de seu ciclo de vida.

Consumo da presa	Quantidade de presas	
	Muitas	Uma ou poucas
Total	Predador	Parasitoide
Parcial	Pastador	Parasita

PRINCÍPIOS BÁSICOS DA PREDACÃO

Um princípio básico da predação é que os predadores precisam subjugar ou capturar suas presas para poder matar e se alimentar delas. Isso está associado ao fato de os predadores serem, geralmente, maiores e mais fortes que suas presas, mas existem exceções. A presença de apêndices e estruturas especiais, como garras preênsais [ex.: moscas (Diptera)], pernas raptorais e mandíbulas cortantes [ex.: louva-deus (Mantodea)], órgãos para produção e injeção de substâncias tóxicas ou paralisantes (ex.: aranhas, percevejos e vespas) e substâncias de agressão, como enzimas de digestão extraoral (ex.: besouros carabídeos e alguns coccinelídeos), além da capacidade de caçar em grupo (ex.: formigas de correição e ninfas de percevejos pentatomídeos), permite que alguns predadores sejam desproporcionalmente menores que suas presas. O aparelho bucal dos predadores é próprio para cortar e mastigar [ex.: besouros (Coleoptera), louva-deus, vespas (Hymenoptera), tesourinha

(Dermaptera)] ou picar e sugar [percevejos (Hemiptera), tripes (Thysanoptera), crisopídeos (Neuroptera)] suas presas (Figura 1).

Outro aspecto interessante é que os predadores podem ter diferentes estratégias comportamentais de caça. Alguns permanecem de tocaia e preferem atacar suas presas por emboscada quando elas se colocam ao seu alcance. Esse comportamento lhes permite a manutenção de uma taxa metabólica baixa, com custo energético reduzido [ex.: aranha (Araneae), formiga-leão (Neuroptera)]. Predadores de emboscada podem construir armadilhas, como teias ou funis de areia, para capturar suas presas; mimetizar cores das flores onde ficam de tocaia, como aranhas da família Thomisidae; ou emitir substâncias químicas capazes de atrair ou enganar suas presas. Outros predadores forrageiam ativamente, patrulhando o ambiente em busca de presas (ex.: joaninhas, vespas, percevejos), porém essa busca ativa requer deles alto custo energético por envolver um conjunto de etapas que compreende: a) localização do habitat da presa; b) localização da presa; c) aceitação da presa; e d) adequação da presa (Hagen, 1987, Garcia, 1991).

Localização do habitat da presa

Esta busca geralmente é realizada pelos predadores no estágio adulto, pois, nesse estágio, por serem alados, possuem maior capacidade de dispersão em relação às formas jovens. Quando se deslocam para localizar o habitat de suas presas principais, os predadores buscam prioritariamente recursos energéticos e nutrientes para sua sobrevivência e reprodução. Essa busca pode ser orientada por pistas visuais, como em crisopídeos e sirfídeos (Diptera), que podem reconhecer cores de algumas flores em busca de néctar e pólen, ou por sinais químicos. Compostos orgânicos voláteis emitidos por plantas atacadas por herbívoros, assim como odores provenientes de exsudatos de insetos em alimentação, como a excreção açucarada dos pulgões (Hemiptera) e outros hemípteros (*honeydew*), ou feromônios de alarme, também são importantes sinais químicos na localização do habitat da presa. Os insetos podem usar esses diferentes sinais, ou a combinação deles, durante diferentes épocas do ano ou em diferentes estágios de desenvolvimento. Porém, não apenas as presas orientam esse comportamento de busca. Recursos alternativos e complementares às presas, como fontes energéticas e proteicas provenientes de néctar e pólen, para o desenvolvimento do aparelho reprodutivo, locais para acasalamento e oviposição e refúgio contra predação intraguilada também podem orientar os adultos para habitats que não apresentem as presas principais nos ecossistemas (Garcia, 1991).

Foto: Francisco Schmidt



Foto: Érica Hartenreiter-Sousa

Foto: Érica Hartenreiter-Sousa



Foto: Érica Hartenreiter-Sousa

Foto: Érica Hartenreiter-Sousa



Foto: Francisco Schmidt

Foto: Érica Hartenreiter-Sousa



Foto: Érica Hartenreiter-Sousa



Foto: Francisco Schmidt

Figura 1. Predadores com aparelho bucal dotado de mandíbulas para mastigação de presas, como besouros (Coleoptera), vespas (Hymenoptera) e louva-deus (Mantodea), e rostro para sugar as presas, como percevejos e larvas de crisopídeos.

Localização das presas

Uma vez no habitat, os predadores buscam suas presas por meio de sinais químicos de curta distância, voláteis e não voláteis, além de padrões visuais preestabelecidos, como “imagens de procura”. Dessa forma, injúrias na planta causadas por lagartas ou besouros ao recortar as folhas, encarquilhamento causado pelas colônias de pulgões e clorose das folhas, bem como a forma alongada das lagartas sobre as plantas e a presença de excrementos, podem criar padrões de imagens característicos que auxiliam os predadores na localização de suas presas. Embora em algumas situações possa parecer que o predador patrulha aleatoriamente a área de busca por presas, a detecção de algum dos sinais mencionados anteriormente pode alterar seu comportamento de caça. Diversas espécies de predadores podem apresentar diferenças quanto à estratégia de busca de acordo com o padrão comportamental de suas presas. Joaninhas especializadas em alimentarem-se de pulgões e cochonilhas, por exemplo, tendem a permanecer nos locais onde esses insetos se localizam, haja vista apresentarem distribuição espacial agregada e hábito de formação de colônias. Por sua vez, alguns predadores, como o percevejo *Podisus*, que se alimenta de lagartas, costuma buscar suas presas ao acaso, não se detendo no mesmo local após consumir uma presa.

Aceitação da presa

O encontro de uma presa potencial pelo predador implica a decisão de atacá-la ou rejeitá-la. Essa decisão dependerá de fatores intrínsecos à presa, como sua qualidade como alimento (ex.: pulgões são relativamente mais ricos em carboidratos e pobres em proteínas se comparados com ovos de outros insetos); seu tamanho em relação ao predador; suas defesas antipredação, como movimentos rápidos de voo ou corrida; além de substâncias químicas excretadas ou conspícuas que possam repelir ou avisar os predadores sobre os riscos do ataque (ex.: feromônio de alarme de percevejos, compostos secundários de plantas sequestrados por lagartas que causam impalatabilidade). Fatores extrínsecos, como a abundância e a disponibilidade da presa, além de condições físicas, como luminosidade, temperatura e umidade, também podem afetar a preferência do predador em relação a algum tipo de presa. Muitas espécies de artrópodes predadores tocam suas presas com as antenas e palpos antes de experimentá-las. O comportamento de aceitação da presa pelo predador pode ser modificado pelo seu estado nutricional. Predadores podem aceitar presas alternativas que não sejam adequadas ao seu desenvolvimento e reprodução, apenas para sua sobrevivência, até que encontrem os itens preferenciais de sua dieta.

Adequação da presa

A qualidade da presa está relacionada aos seguintes fatores: proporção adequada de nutrientes, valor energético e presença de compostos antinutricionais e defensivos que ela disponibiliza para o predador. Apesar de as necessidades nutricionais dos predadores serem basicamente semelhantes às dos fitófagos (Hagen, 1987), cada predador pode apresentar requerimentos específicos, às vezes em apenas um estágio de desenvolvimento, para sua sobrevivência e reprodução (ex.: adultos de joaninhas podem sobreviver se alimentando de néctar, pólen e diferentes espécies de pulgões, mas somente se desenvolvem e se reproduzem quando se alimentam dos pulgões de sua preferência). Dessa forma, sempre haverá presas mais ou menos adequadas a cada predador, gerando neles padrões de preferência e níveis de especialização.

Na natureza, observam-se espécies de predadores especializados em uma (monófagos) ou em poucas presas (oligófagos) em contraposição a espécies capazes de predação diversas presas (generalistas), formando um gradiente de espécies entre esses dois extremos. Segundo a teoria do forrageamento ótimo, o espectro de presas de um predador pode estar relacionado à frequência, abundância e qualidade nutricional das presas encontradas, além da densidade de competidores por essas presas, em um habitat (Futuyma, 1992). Conforme essa teoria, um predador tenderá a se especializar na presa que lhe forneça a maior recompensa nutricional por tempo de busca e manuseio, de forma abundante e previsível. No entanto, a frequência de encontros entre predador e presa, que é dependente da abundância da presa ou da presença de competidores, pode reduzir a disponibilidade desse alimento e constituir um fator limitante que forçaria o predador a buscar presas alternativas. Assim, características do predador, como especialização e capacidade de encontrar sua presa no ambiente, capacidade de digerir e metabolizar sua presa com um balanço energético e nutricional adequado e capacidade de vencer os mecanismos de defesa antipredação exibidos por algumas presas, seriam moldadas por processos evolutivos. Existe uma troca (*trade-off*) entre encontrar mais facilmente qualquer tipo de presa ou vários tipos com menor ganho energético e/ou nutricional, ou ser especialista e buscar seletivamente presas mais adequadas em ambientes homogêneos e com recursos concentrados, como são os agroecossistemas.

CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS E ECOLÓGICAS

Os predadores exercem papel importante como fator de mortalidade de artrópodes-praga nos agroecossistemas e podem promover o equilíbrio natural ao controlar as populações de pragas potenciais. No entanto, a agricultura fragmenta e destrói a vegetação nativa e é considerada um dos maiores fatores atuais de extinção de espécies e perturbação ambiental ao provimento de serviços ecossistêmicos pela biodiversidade (Cardinale et al., 2012; Ferreira et al., 2012). Nesse cenário, a diversificação de espécies em diferentes escalas do agroecossistema tem sido proposta como alternativa para mitigar esses efeitos e aumentar a sustentabilidade dos sistemas agrícolas. Práticas que promovam o aumento da diversificação de espécies na escala da paisagem local, por meio do manejo de espécies cultivadas e espontâneas, ou na escala regional, por meio da manutenção de fragmentos de vegetação nativa, modificam o ambiente, fornecem recursos alternativos e favorecem a dispersão e a colonização de predadores e outros inimigos naturais, contribuindo para sua conservação. Apesar de apresentarem algum grau de preferência por presas mais adequadas, predadores são capazes de usar recursos alimentares alternativos, como presas menos adequadas, pólen, néctar e outros exsudatos da planta como complemento nutricional, que aumentam o grau de generalidade de seu hábito alimentar. Desse modo, podem sobreviver e se manter em um habitat mesmo quando há baixa abundância da presa ou mesmo sua ausência.

No entanto, o serviço ecológico de controle biológico de pragas em áreas cultivadas depende de aspectos mais complexos que simplesmente a conservação de sua diversidade local. A sincronia dos padrões da distribuição populacional espaço-temporal entre a praga e os predadores, além da estruturação de cadeias tróficas onde prevaleçam interações não competitivas entre predadores são fatores primordiais para o efetivo controle biológico das populações de pragas potenciais em agroecossistemas. Segundo a teoria ecológica, teias alimentares que contenham maior número de interações tróficas tendem a apresentar maior resiliência diante de variações bruscas do ambiente. No entanto, interações negativas como competição por exploração pelo mesmo recurso e predação intraguilda podem reduzir o efeito desejado de controle dos herbívoros. Por sua vez, cadeias tróficas mais curtas e com a presença de predadores que ajam de forma complementar em diferentes fases do ciclo de vida, ou em diferentes locais de alimentação do inseto-praga, parecem ser capazes de regular a abundância dessas populações (Symondson et al., 2002; Begg et al., 2017). Casos de predadores especialistas capazes de regular as populações de

Serviços ecossistêmicos
Serviços ou funções realizadas pela biodiversidade para manutenção dos ecossistemas que, eventualmente, sejam de interesse da humanidade.

artrópodes-praga podem ser encontrados na literatura, mas em proporção inferior aos exemplos com parasitoides (Stiling, 1988).

Assim, algumas características comportamentais devem ser consideradas na avaliação do potencial de determinada espécie de predador para o controle populacional de uma espécie-alvo. Entre elas, destacam-se as informações a respeito da habilidade do predador de responder a mudanças na densidade populacional da praga, ou seja, em relação à resposta funcional (mudança na taxa de consumo de presas de acordo com os tempos de busca e manuseio das presas) e à resposta numérica (capacidade de resposta reprodutiva diante do aumento da disponibilidade de presas).

Além dos aspectos comportamentais relacionados à regulação populacional, existem outras características ecológicas que podem influenciar o sucesso de determinado predador no controle biológico de pragas agrícolas. A fenologia do predador deverá ser sincronizada com a da praga, de modo que suas populações estejam adaptadas às mesmas condições físicas do ambiente (temperatura, fotoperíodo, umidade, etc.) e ocupem os mesmos habitat ou plantas, de forma que não haja resposta densidade-dependente tardia em relação aos danos que a praga pode produzir na planta cultivada. Para que essa sincronia ocorra, o predador deve apresentar plasticidade e adaptabilidade em relação às condições climáticas e meteorológicas da região e época de plantio, além de ter populações colonizadores presentes em ambientes contíguos à área de plantio na escala da paisagem regional.

Além disso, conforme citado anteriormente, recursos alternativos e complementares, como nutrientes e energia provenientes do néctar, do pólen e de presas alternativas, devem estar presentes no habitat para que haja o estabelecimento da população do predador.

As plantas, que são produtoras primários e base das cadeias alimentares, podem influenciar positiva ou negativamente o desempenho de um predador (interações tritróficas). Na década de 1980, Price foi o primeiro a chamar a atenção para a influência dos inimigos naturais (terceiro nível trófico) nas interações plantas-herbívoros e para a influência das plantas hospedeiras sobre esses (Price et al., 1980). Estágio fenológico, arquitetura, características químicas (toxinas, inibidores

de digestão, semioquímicos) e/ou físicas (tricomas e dureza dos tecidos) das plantas podem afetar as interações entre herbívoros e seus inimigos naturais, agindo diretamente no herbívoro, no inimigo natural ou em ambos. Plantas que possuem tricomas e cera na sua superfície podem dificultar a fixação e a locomoção dos predadores afetando negativamente as taxas de predação.

Tricomas

Apêndices epidérmicos, podendo ser glandulares ou tectores, que geralmente servem para proteção das plantas.

Os predadores podem passar mais tempo procurando suas presas em plantas com arquiteturas mais complexas (mais ramos, mais folhas), o que afeta negativamente também as taxas de predação. No entanto, essas influências da planta sobre as interações predador-presa variam entre espécies de predadores e mesmo de presas. Por exemplo, o comportamento de busca da joaninha-asiática (*Harmonia axyridis* Pallas) e de larvas de *Chrysoperla carnea* em pulgões (*Acyrtosiphon pisum* Harris) foi diferente quando avaliado em variedades de ervilha (*Pisum sativum* L.) que apresentavam diferenças na arquitetura das plantas (Reynolds; Cuddington, 2012). A joaninha-asiática apresentou comportamento de busca mais eficiente em plantas com mais ramos do que naquelas com mais folhas. Além disso, a capacidade de *H. axyridis* de se manter sobre as plantas e se deslocar aumentou em variedades com muitos ramos. Já o comportamento de busca das larvas de *C. carnea* e a capacidade de se manterem sobre as plantas não foram afetados pelas diferenças entre as arquiteturas das variedades de ervilha. Portanto, o conhecimento de como a cultura-alvo a ser protegida poderá influenciar as interações presa-predador é fundamental na escolha do predador a ser liberado no sistema.

CLASSIFICAÇÃO TAXONÔMICA E NOMENCLATURA

Os principais predadores de artrópodes-praga estão distribuídos nas classes Insecta e Arachnida. Praticamente todas as ordens de insetos possuem espécies predadoras, com exceção de Embioptera, Blattodea, Phasmatodea, Psocoptera, Auchenorrhyncha, Sternorrhyncha e Siphonaptera. As principais famílias de predadores para o controle biológico de artrópodes-praga em agroecossistemas são descritas a seguir.

Classe Insecta

Ordem Coleoptera

Os coleópteros possuem grande diversidade de espécies distribuídas em pelo menos 110 famílias, a maioria das quais possui espécies predadoras. Nos agroecossistemas tropicais, destacam-se as famílias Coccinellidae, Carabidae e Staphylinidae.

As joaninhas (Coccinellidae) podem ser encontradas em hortas, pomares, grandes culturas e em vegetação nativa, por isso são relativamente bem conhecidas. Em geral, os adultos possuem o corpo arredondado ou ovalado, são coloridos e podem medir de 1 mm a 10 mm. As larvas são ágeis e, em algumas espécies, possuem o

corpo recoberto por uma secreção cerosa branca. Pode haver canibalismo de ovos e larvas, especialmente na escassez de presas. Tanto as larvas como os adultos são predadores e utilizam pistas químicas e visuais para encontrar suas presas. Alimentam-se principalmente de pulgões, mas algumas espécies predam ácaros, cochonilhas e psilídeos entre outros hemípteros, bem como ovos de insetos. Podem suplementar sua dieta com pólen, néctar e *honeydew*, especialmente na ausência de presas.

Outra interação que pode ocorrer entre os coccinelídeos é a predação intraguil-da com heteroespecíficos. Algumas espécies e gêneros são bem conhecidos como *Scymnus*, *Cycloneda sanguinea* (L.), *Eriopis connexa* (Germar), *Coleomegilla maculata* (DeGeer), *Hippodamia convergens* (Guërin-Mêneville) e *H. axyridis*. Esta última é uma espécie exótica utilizada em programas de controle biológico, com ocorrência registrada para o Brasil em 2002. Caracteriza-se por ser uma joaninha com alta voracidade e grande capacidade de dispersão. Além disso, é capaz de desalojar e preda outras espécies de coccinelídeos nativos, podendo interferir negativamente no controle de pragas e na manutenção da biodiversidade. As espécies citadas são capazes de consumir de 3 mil a 4 mil presas durante a fase larval e adulta (Oliveira et al., 2004).

Insetos da família Carabidae geralmente se abrigam no solo e podem caçar tanto no solo como nas plantas. São generalistas e muitas espécies possuem hábito noturno. Os adultos possuem corpo achatado dorso-ventralmente e levemente convexo, cores metálicas e tamanho entre 1 mm e 70 mm. As larvas possuem o corpo mole, com pernas e mandíbulas bem desenvolvidas, e apresentam o hábito de se alojar em galerias no solo, aguardando a passagem da presa. A espécie *Calosoma granulatum* Perty é um predador voraz de lagartas da soja, que se caracteriza por ser capaz de consumir mais de 90 lagartas por dia na fase adulta. Outros gêneros de ocorrência frequente em diversos agroecossistemas no Brasil são *Callida* e *Lebia*. Os adultos apresentam menor porte e voracidade e podem consumir entre cinco e oito lagartas por dia (Corrêa-Ferreira; Moscardi, 1985). Os cicindelídeos são uma subfamília de Carabidae, conhecidos como besouros-tigre. Possuem olhos proeminentes, mandíbulas grandes e pernas longas. Adultos e larvas são predadores. As larvas vivem em orifícios cilíndricos e profundos construídos no solo, onde capturam suas presas; os adultos buscam presas na superfície do solo.

Os estafilínídeos são conhecidos como potós. Possuem corpo alongado, podem medir de 0,5 mm a 50 mm e suas asas anteriores são curtas e rígidas. São importantes predadores de larvas de moscas que se alimentam de raízes de hortaliças, como aliáceas e brássicas.

Ordem Dermaptera

Os insetos desta ordem são conhecidos como tesourinhas. Possuem corpo alongado, estreito, medindo de 4 mm a 80 mm de comprimento, e coloração preta ou marrom. Possuem as asas anteriores curtas e um par de cercos, em forma de pinça, na extremidade do abdômen. Adultos e imaturos predam ovos, lagartas, pupas, pulgões e moscas-brancas. Possuem hábitos noturnos, período em que buscam por presas no solo e no dossel das plantas. Raramente possuem atividades diurnas. Abrigam-se em fendas de árvores, entre pedras, troncos ou na serrapilheira. São importantes predadores de pragas que ficam em partes protegidas das plantas.

A família Forficulidae é a mais importante, considerando o potencial de suas espécies para o controle de pragas. *Doru luteipes* (Scudder) é predador de pragas do milho e do sorgo, como *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), *Helicoverpa zea* (Boddie) e *Schizaphis graminum* (Rondani). Pode também se alimentar de pólen, beneficiando-se de plantas associadas aos cultivos, especialmente em períodos de escassez de presas.

Na família Labiduridae, *Labidura riparia* (Pallas) é uma das maiores espécies. Preda pulgões, ovos e lagartas; destaca-se na predação da broca-da-cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabricius).

Na família Anisolabididae, destaca-se a espécie *Euborellia annulipes* (Lucas), predadora de pulgões, imaturos de coleópteros, hemípteros, lepidópteros e dípteros. No entanto, essa espécie também consome tecido vegetal e pode ocasionar danos às plantas.

Ordem Diptera

As principais famílias de dípteros predadores são Asilidae, Syrphidae e Dolichopodidae. Os asilídeos, que englobam os insetos conhecidos como moscas predadoras ou moscas assassinas, são predadores nas fases tanto larval quanto adulta. Os adultos medem de 9 mm a 15 mm de comprimento, são pretos, marrons ou cinzas. Geralmente apresentam o corpo coberto por pelos, com tórax desenvolvido e abdômen alongado e cônico. Uma das características marcantes desse grupo é a presença de olhos grandes e salientes, separados dorsalmente por uma depressão. Possuem aparelho bucal sugador-labial, formando um bico resistente e afiado, que é usado para injetar toxina nas presas antes de se alimentarem delas. As larvas vivem no solo ou em material orgânico em decomposição. São predadores oportunistas, e sua dieta é resultado da disponibilidade de presas em um determinado habitat.

Os adultos capturam muitas das suas presas durante o voo, e as larvas se alimentam de ovos, outras larvas e insetos de tegumento mole.

Syrphidae é uma das maiores famílias de Diptera. Os sirfídeos são conhecidos como moscas-das-flores, mindinho ou fevereiro e constituem importantes polinizadores e agentes de controle de diversas espécies de pulgões. Os adultos medem de 4 mm a 35 mm de comprimento e apresentam coloração variada. Possuem um voo característico, como se estivessem planando no ar, em razão de seu rápido batimento de asas. Algumas espécies assemelham-se a vespas (mimecrismo Batesiano) e, com isso, ganham proteção contra predadores. Alimentam-se de pólen, néctar e *honeydew*. As fêmeas necessitam de pólen para reprodução, portanto é importante a manutenção de plantas que produzam flores próximo aos plantios. As larvas são ápodas, semelhantes a lesmas achatadas, e possuem aparelho bucal mastigador. Predam pulgões, cochonilhas, tripes e lagartas; e algumas espécies são filófagas, micrófagas ou saprófagas. Ao forragearem por pulgões, frequentemente encontram outros predadores, como coccinelídeos e crisopídeos, com os quais podem interagir via predação intraguilda. Os gêneros *Pseudodorus*, *Salpingogaster*, *Allograpta*, *Baccha* e *Toxomerus* são importantes no Brasil.

Moscas da família Dolichopodidae medem entre 8 mm e 9 mm de comprimento, possuem corpo delgado e colorido de cor metálica e brilhante. São conhecidas como mosca de pernas longas. Suas larvas possuem aspecto leitoso, com os segmentos abdominais delimitados por anéis. Vivem no solo, associadas à matéria orgânica em decomposição. Os adultos são predadores de mosca-branca e outros pequenos insetos de tegumento mole. Espécies dos gêneros *Condylostylus* e *Chrysotus* são comumente encontradas em agroecossistemas, apresentando elevada abundância e diversidade de espécies.

Ordem Hemiptera

Insetos da subordem Heteroptera são sugadores conhecidos como percevejos. Seu hábito alimentar pode ser fitófago, hematófago ou predador. A forma do aparelho bucal dos percevejos pode ser usada para distinção do hábito alimentar. Os predadores possuem o rostro curto e curvo, os fitófagos reto, delgado e longo, ultrapassando a inserção do primeiro par de pernas. Já os hematófagos possuem o rostro curto e reto.

A família Anthocoridae compreende heterópteros conhecidos como percevejo-pirata. Predam ácaros e insetos. *Orius insidiosus* (Say), espécie mais conhecida, caracteriza-se por ser um predador de corpo ovalado, preto com manchas brancas, medindo

cerca de 2 mm a 3 mm de comprimento. Suas ninfas são amareladas e possuem olhos vermelhos. No Brasil, esta espécie é comum em vários agroecossistemas, tais como cultivos de milho e soja, por exemplo, além de plantas espontâneas como o picão-preto (*Bidens pilosa* L.) e o caruru (*Amaranthus* sp.). São capazes de alimentar-se de ninfas de mosca-branca, cigarrinhas, tripes, pulgões, ácaros, lagartas pequenas e ovos de insetos, porém os tripes parecem ser sua presa preferencial. Utilizam pistas químicas associadas às plantas atacadas para localizarem suas presas. Também se alimentam de pólen de diversas plantas, cultivadas e espontâneas. Por serem polípagos, podem preda outros artrópodes predadores (predação intraguilda), mesmo na disponibilidade de presas.

Na família Geocoridae, tem destaque os percevejos do gênero *Geocoris*, importantes agentes de controle de moscas-brancas, lagartas pequenas, ovos de insetos e ácaros em diversas culturas de interesse econômico. Medem cerca de 3 mm de comprimento e chamam atenção pelos olhos grandes, destacados do corpo. A espécie *Geocoris punctipes* (Say) é comumente encontrada em espigas de milho, predando ovos e lagartas de *H. zea*. Alimenta-se também da traça-do-tomateiro, *Tuta absoluta* (Meyrick), em tomate, e de diversas pragas da soja, do algodão e da alfafa. Avaliações realizadas com adultos de *Geocoris* sp. demonstraram capacidade de consumo de até nove ovos de *Anticarsia gemmatilis* Hübner por dia. Dependendo da densidade populacional, esses predadores podem apresentar comportamento canibalístico, o que pode afetar sua dinâmica populacional e as interações tróficas com heteroespecíficos.

As famílias Miridae, Reduviidae e Nabidae incluem percevejos comuns em áreas agrícolas e podem, junto a outras espécies, contribuir para o controle de pragas como lagartas de tamanho médio a grande, percevejos fitófagos, ovos de mariposas, moscas, vaquinhas e outros insetos. A família Miridae é uma das mais diversas dentro da ordem Hemiptera. Esses insetos possuem como característica a extremidade da asa dobrada para baixo. A família possui espécies de predadores verdadeiros e facultativos, que podem se desenvolver alimentando-se somente de plantas; algumas espécies podem causar danos aos cultivos. *Macrolophus basicornis* (Stal), *Engytatus varians* (Distant) e *Campyloneuropsis infumatus* (Carvalho) se desenvolvem e reproduzem se alimentando de ovos e larvas da traça-do-tomateiro (*T. absoluta*).

Conhecidos como percevejos assassinos, os percevejos da família Reduviidae são facilmente reconhecidos pelas seguintes características: “pescoço” destacado, cabeça fina e alongada, que termina em um aparelho bucal picador-sugador curvo e evidente. Esses percevejos são extremamente vorazes e generalistas e podem preda insetos adultos e benéficos como abelhas e outros predadores (predação intraguilda). A família Nabidae inclui predadores que são facilmente reconhecidos pelo aparelho bucal longo e antenas e olhos bastante evidentes. O gênero *Nabis* possui

espécies importantes que ocorrem em culturas de soja e algodão, nas quais predam ovos e larvas de lepidópteros-pragas. Avaliações em laboratório demonstraram que adultos de *Nabis* spp. são capazes de consumir mais de 20 ovos ou 3 lagartas de terceiro instar de *A. gemmatalis* por dia.

A família Pentatomidae possui espécies fitófagas e predadoras. Apesar da semelhança, pode-se distingui-las por características morfológicas do aparelho bucal. Os predadores apresentam o aparelho bucal (bico) grosso e curto, não ultrapassando a inserção do terceiro par de pernas; o primeiro segmento não é fundido, o que permite sua total projeção para frente (Figura 2A). Os fitófagos possuem bico fino e comprido, ultrapassando a inserção do terceiro par de pernas (Figura 2B). *Podisus* e *Brontocoris* são os principais gêneros de pentatomídeos predadores encontrados no Brasil. Espécies desses gêneros são importantes para o controle biológico de lagartas desfolhadoras em diversas culturas, tais como algodão, tomate, eucalipto e soja.

Fotos: Érica Hartmann-Sousa



Figura 2. Aparelho bucal de dois percevejos (Hemiptera: Pentatomidae): predador (*Podisus nigrispinus*) com bico curto, curvado e grosso (A) e fitófago (*Euchistus heros*) com bico mais fino, reto e longo, ultrapassando o primeiro par de pernas (B).

Ordem Hymenoptera

As principais famílias com espécies predadoras nesta ordem são Vespidae e Formicidae. A maioria das espécies de vespas ou marimbondos é social e escolhe locais protegidos da chuva e do vento para construir seus ninhos, como o interior de matas, por exemplo. As colônias podem abrigar poucos ou centenas de indivíduos. Em geral, são insetos de tamanho médio a grande (5 mm a 20 mm de comprimento) e suas cores variam de preto, com tons metálicos, a listrados de amarelo ou branco e preto. Por causa da alta demanda das colônias por alimento, as vespas predam grande quantidade de insetos, especialmente lagartas e outros imaturos. Alimentam-se também de néctar, pólen e exsudatos.

Os principais gêneros de vespas associadas a áreas cultivadas são *Polybia*, *Polistes* e *Brachygastra*. No cafeeiro, a predação do bicho-mineiro *Leucoptera coffeella* (Guérin-Méneville) por vespas representa a maior causa de mortalidade natural da praga. As vespas dilaceram as minas pela epiderme inferior ou superior da folha e retiram a lagarta para se alimentar. *Polistes versicolor* (Olivier) é uma espécie de importância no controle de lagartas desfolhadoras do eucalipto. O cultivo de plantas que fornecem néctar e pólen, bem como a conservação de áreas com espécies arbóreas que fornecem alimento alternativo e abrigo às colônias de vespas predadoras são estratégias para conservar e aumentar a população desses insetos nos agroecossistemas.

As formigas (Formicidae) predadoras se alimentam de ovos, larvas e pupas de insetos, néctar, *honeydew*, fungos e seiva das plantas. Muitas espécies fazem seus ninhos nas plantas e apresentam comportamento territorial e agressivo, protegendo-as contra o ataque de outros herbívoros. Algumas plantas atraem as formigas para que as defendam de herbívoros; algumas produzem néctar extrafloral para, por exemplo, atrair as formigas e outros predadores. Em algodão, são importantes predadores do bicudo-do-algodoeiro e de lagartas desfolhadoras; no cafeeiro, da broca-do-café; no tomate, de brocas-do-tomateiro, entre outras pragas. Os principais gêneros de formigas predadoras são *Pheidole*, *Solenopsis*, *Camponotus*, *Crematogaster* e *Iridomyrmex*, que ocorrem em diversos agroecossistemas no Brasil.

Ordem Neuroptera

Insetos desta ordem são predadores pelo menos durante uma fase do seu ciclo de vida. As duas principais famílias de importância agrônômica são Chrysopidae e Hemerobiidae. Os crisopídeos são predadores durante a fase larval, e os adultos da maioria das espécies encontradas no Brasil se alimentam de pólen, néctar e *honeydew*.

São encontrados em agroecossistemas e em ambientes naturais. As larvas são muito ágeis, com três pares de pernas torácicas alongadas. Alimentam-se principalmente de pulgões, mas podem também preda cochonilhas, tripes, moscas-brancas, psílídeos, larvas de lepidópteros e ácaros. Algumas espécies podem consumir alimentos derivados de plantas, como pólen e néctar floral ou extrafloral. As larvas de alguns gêneros são conhecidas como bicho-lixeiro, por causa do hábito de carregarem detritos, restos de presas e exúvias no próprio dorso. Em outros gêneros, elas não possuem esse hábito e as larvas são denominadas “nuas”. Os adultos medem de 10 mm a 15 mm de comprimento, possuem coloração esverdeada, antenas filiformes, e as asas têm um rico sistema de venação. A oviposição é característica da família, pois os ovos são depositados na extremidade de um pedicelo. As larvas têm hábito canibal, especialmente quando o espaço e a alimentação são restritos. Também podem apresentar predação intraguildda, especialmente com coccinelídeos. *Chrysoperla externa* (Hagen) (larvas nuas) e *Ceraeochrysa cubana* (Hagen) (larvas lixeiras) são espécies comuns em vários agroecossistemas no Brasil.

Predadores da família Hemerobiidae são menos conhecidos no Brasil em relação aos crisopídeos. As larvas e os adultos são predadores e alimentam-se principalmente de pulgões, cochonilhas, psílídeos, ácaros e outros artrópodes de tegumento macio. Os adultos possuem coloração marrom e depositam ovos não pedicelados. As larvas são de aspecto fusiforme, ágeis e não possuem o hábito de carregar lixo.

Ordem Thysanoptera

Os tripes podem apresentar hábitos fitófagos, predadores, ou alimentarem-se de pólen, esporos e hifas de fungos. Vivem nas folhas ou flores. Certas espécies podem, eventualmente, utilizar exsudatos de Lepidoptera, sugar sangue ou serem ectoparasitas de outros insetos. Medem de 0,5 mm a 3,0 mm e têm coloração de amarela a preta. A família Aeolothripidae possui espécies predadores e a Phlaeothripidae inclui espécies predadoras e filófagas. Espécies de Phlaeothripidae predam a broca-do-café (*Hypothenemus hampei* Ferrari).

Classe Arachnidae

Ordem Araneae

Espécies de aranhas possuem diferentes morfologias, tamanhos e estratégias de ataque. São predadoras generalistas, e algumas espécies procuram ativamente por suas presas enquanto outras permanecem no mesmo local esperando por

sua presa para, então, atacá-la. Nem todas as aranhas produzem teia para subjugar suas presas. Aquelas que não produzem teia geralmente possuem coloração que lhes confere uma camuflagem com o ambiente ou, então, ficam escondidas na vegetação. As aranhas que produzem teia, mesmo que não consumam suas presas, podem retê-las nessas armações construídas com fios de seda. Portanto, as aranhas podem ter impacto direto sobre a população de diferentes pragas pelo seu consumo total ou parcial ou, indiretamente, pela imobilização de suas presas. Por serem comuns em cultivos, as aranhas podem preda diferentes tipos de insetos, como as vaquinhas, os burrinhos, as mariposas, os percevejos-praga, as cigarrinhas, os pulgões e as moscas-brancas. A diversidade de aranhas dentro dos agroecossistemas depende do tipo de manejo, que deve estar associado aos seguintes fatores: redução do uso de agrotóxicos, presença de cobertura do solo (cobertura morta ou por plantas espontâneas), presença de locais para construção de teias e proximidade de fragmentos de matas. Algumas famílias importantes são as seguintes: Salticidae, Araneidae, Thomisidae, Anyphaenidae, Corinnidae, Lycosidae, Philodromidae, Oxyopidae e Theridiidae.

Ordem Acari

Embora não sejam insetos, os ácaros da família Phytoseiidae são importantes predadores de ácaros fitófagos, tripes e moscas-brancas (mais detalhes no Capítulo 5). Algumas espécies também se alimentam de nematoides, esporos de fungos e exsudatos de plantas. Outras são estritamente predadoras e altamente especializadas em um único gênero de presas, como *Phytoseiulus*, que são especialistas em preda espécies de *Tetranychus*. Outras espécies de fitoseídeos são frequentemente associadas a espécies fitófagas que produzem densas teias sobre as plantas hospedeiras, como, por exemplo, espécies de *Galendromus*, a maioria das espécies de *Neoseiulus* e algumas poucas espécies de *Typhlodromus*. Há um terceiro grupo, composto por predadores generalistas, que podem ser representados pela maioria das espécies dos gêneros *Amblyseius* e *Typhlodromus*. O último grupo, composto de ácaros Phytoseiidae, é especialista em alimentar-se de pólen, como espécies do gênero *Euseius*.

O ciclo de vida dos fitoseídeos consiste dos seguintes estágios: ovo, larva, protoninfa, deutoninfa e adulto. Medem de 0,25 mm a 0,40 mm de comprimento e apresentam pernas longas em relação ao tamanho do corpo, o que facilita seu deslocamento rápido e permite cobrir pequenas distâncias com rapidez e facilidade. Caminham com habilidade sobre a superfície de folhas e ramos de plantas, sobre a teia de ácaros fitófagos e na superfície do solo. Entretanto, a dispersão para longas distâncias é feita de forma passiva, principalmente pelo vento, podendo também ser

carregados por outros animais (forésia). *Phytoseiulus macropilis* (Banks) e *Neoseiulus californicus* (McGregor) são comercializados no Brasil para o controle do ácaro-rastador (*Tetranychus urticae* Koch), principalmente em cultivos de morango. O ácaro predador *N. californicus* também é comercializado para o controle do ácaro-branco [*Polyphagotarsonemus latus* (Banks)].

Ácaros da família Laelapidae são geralmente esclerotizados, o que lhes confere coloração amarronzada quando adultos. Apresentam tamanhos variados. Ácaros dessa família incluem parasitas de vertebrados, alguns dos quais atacam animais domésticos e são de importância veterinária. Algumas espécies têm demonstrado potencial no controle biológico de pragas em ambiente protegido. No Brasil, *Stratiolaelaps scimitus* (Womersley) é utilizada para o controle de larvas de fungus gnats [*Bradysia matogrossensis* (Lane)], considerada o principal problema fitossanitário no cultivo de cogumelos *Agaricus* spp. O ácaro predador alimenta-se preferencialmente de ovos e larvas do díptero, que vivem no solo. Uma das recomendações é que a liberação inundativa desses ácaros seja realizada logo após o plantio das mudas, quando a densidade populacional da praga ainda é baixa, o que pode garantir o sucesso do controle.

Ácaros da família Stigmaeidae medem de 0,09 mm a 0,50 mm, têm formato ovoide ou arredondado e apresentam coloração que varia entre amarelo, laranja ou vermelho. O gênero *Agistemus* destaca-se em importância como agente de controle biológico de ácaros fitófagos no Brasil. A espécie *Agistemus floridanus* Gonzalez é encontrada em altas populações e está associada a ácaros fitófagos da seringueira; *Agistemus brasiliensis* Matioli, Ueckermann & Oliveira tem potencial como agente de controle biológico do ácaro-plano *Brevipalpus yothersi* Baker em culturas como citros e café.

A família Ascidae inclui ácaros predadores presentes no solo e sobre as plantas, podendo ser encontrados também em associação com outros animais. Variam de tamanho pequeno a médio, frequentemente apresentam tons pálidos, com coloração de amarelo a marrom. São ácaros que apresentam grande quantidade de setas no escudo dorsal, cujo número varia de 25 a 45 pares conforme a espécie. Muitas espécies são promissoras no controle biológico de pragas habitantes de solo, como, por exemplo, os nematoides em cultivos protegidos. *Proctolaelaps* é um importante gênero dessa família, que desempenha papel importante como reguladores das populações da principal praga do coqueiro (*Aceria guerreronis* Keifer). Mais detalhes sobre ácaros predadores são apresentados no Capítulo 5.

PROGRAMAS DE CONTROLE BIOLÓGICO

O primeiro e clássico caso de sucesso na introdução de um predador como agente de controle biológico ocorreu em 1888. Nessa oportunidade, houve a importação do predador *Rodolia cardinalis* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) da Austrália para os Estados Unidos, visando ao controle da cochonilha *Icerya purchasi* Maskell (Hemiptera: Monophlebidae). A introdução da praga, que estava causando sérios prejuízos à citricultura americana, ocorreu por meio de mudas de citros infestadas oriundas daquele país. Com isso, introduziu-se no sistema um importante fator de mortalidade, responsável pela regulação populacional da praga. Isso tornou-a menos abundante e promoveu a redução dos prejuízos. Esse procedimento também foi adotado com sucesso por outros países nos quais a praga havia sido introduzida.

No século 20, houve avanços no controle biológico no Brasil e no mundo, embora a adoção de produtos fitossanitários como principal ferramenta para redução de populações de pragas tenha se tornado comum a partir da 2ª Grande Guerra Mundial. No Brasil, houve a introdução de diversos inimigos naturais, bem como o aprimoramento de programas de controle biológico com base, principalmente, na liberação inundativa e destaque para parasitoides e entomopatógenos. Todavia, nos últimos anos tem havido grande interesse para que sejam empregados predadores, principalmente ácaros fitoseídeos, no controle biológico de pragas agrícolas e de importância veterinária (Tabela 1).

Insetos e ácaros fitófagos destacam-se como alvos dos predadores e, consequentemente, de programas de controle biológico nos quais esses inimigos naturais são empregados. As principais ordens entre os insetos-alvo são as seguintes: Lepidoptera, Diptera, Coleoptera, Hymenoptera e Hemiptera (Heteroptera e Sternorrhyncha). Os pulgões, moscas-brancas e cochonilhas (Sternorrhyncha) representam os principais grupos para os quais foram realizados o maior número de introduções de predadores (Stiling, 1993). Entre os ácaros fitófagos, as principais famílias-alvo são Tetranychidae e Tarsonemidae, para os quais ácaros predadores e coccinelídeos são os principais agentes de controle empregados (Tabela 2). Entre os predadores já disponíveis comercialmente em diferentes países, destacam-se insetos, como várias espécies de joaninhas (Coccinellidae), percevejos predadores (Anthocoridae, Miridae, Pentatomidae), larvas de bicho-lixeiro (Chrysopidae), larvas de moscas (Syrphidae), tesourinhas (Forficulidae), além de várias espécies de ácaros (Phytoseidae).

A utilização de agentes de controle biológico é comum em cultivos conduzidos em ambientes protegidos (casa de vegetação e cultivo telado e protegido), onde ácaros predadores são frequentemente utilizados. Países localizados em zonas tem-

Tabela 2. Exemplos dos principais grupos de insetos e ácaros-alvo do controle biológico por predadores.

Praga			Predador
Nome comum	Espécie	Ordem/Família	
Lagarta-do-cartucho	<i>Spodoptera frugiperda</i>	Lepidoptera (Noctuidae)	<i>Doru luteipes</i> (Dermaptera: Forficulidae)
Lagarta-militar	<i>Spodoptera</i> spp.	Lepidoptera (Noctuidae)	<i>D. luteipes</i> (Dermaptera: Forficulidae)
Broca-da-cana-de-açúcar ou broca-do-colmo	<i>Diatraea saccharalis</i>	Lepidoptera (Crambidae)	Formigas predadoras (Hymenoptera: Formicidae)
Lagarta-da-soja	<i>Anticarsia gemmatalis</i>	Lepidoptera (Erebidae)	<i>Calosoma granulatum</i> (Coleoptera: Carabidae)
Curuquerê-do-aldoeiro	<i>Alabama argillacea</i>	Lepidoptera (Noctuidae)	<i>Podisus maculiventris</i> (Hemiptera: Pentatomidae)
Bicho-mineiro-do-café	<i>Leucoptera coffeella</i>	Lepidoptera (Lyonetiidae)	<i>Brachygastra</i> spp., <i>Polybia</i> spp. (Hymenoptera: Vespidae)
Pulgão	<i>Aphis gossypii</i> <i>Myzus persicae</i>	Hemiptera (Aphididae)	Joaninhas (Coleoptera: Coccinellidae): <i>Cycloneda sanguinea</i> , <i>Hippodamia convergens</i> , <i>Harmonia axyridis</i> ; sirfídeos (Diptera: Syrphidae); crisopídeos (Neuroptera: Chrysopidae) – <i>Chrysoperla externa</i>
Mosca-branca	<i>Trialeurodes vaporariorum</i>	Hemiptera (Aleyrodidae)	<i>Neoseiulus barkeri</i> (Acari: Phytoseiidae)
	<i>Bemisia tabaci</i>	Hemiptera (Aleyrodidae)	<i>Macrolophus</i> spp. (Hemiptera: Miridae)
Cochonilhas	Diversas espécies	Hemiptera (Pseudococcidae, Coccidae e Diaspididae)	<i>Cryptolaemus montrouzieri</i> (Coleoptera: Coccinellidae)
Trips	<i>Thrips tabaci</i>	Trips (Thripidae)	Percevejo-pirata – <i>Orius insidiosus</i> (Hemiptera: Anthcoridae)
	<i>Frankliniella</i> spp.	Trips (Thripidae)	Ácaro – <i>Neoseiulus barkeri</i> (Phytoseiidae)
Mosca-doméstica	<i>Musca domestica</i>	Diptera (Muscidae)	Ácaros fitoseídeos
Mosca-do-estábulo	<i>Stomoxys calcitrans</i>	Diptera (Muscidae)	Ácaros fitoseídeos
Fungus gnats	<i>Bradysia matogrossensis</i>	Diptera (Sciaridae)	<i>Stratiolaelaps scimitus</i> (Acari: Laelapidae)
Ácaro-rajado	<i>Tetranychus urticae</i>	Acari (Tetranychidae)	<i>Phytoseiulus macropilis</i> , <i>Neoseiulus californicus</i> (Acari: Phytoseiidae); <i>Stethorus</i> spp. (Coleoptera: Coccinellidae)
Ácaro-branco	<i>Polyphagotarsonemus latus</i>	Acari (Tarsonemidae)	<i>Neoseiulus barkeri</i> (Acari: Phytoseiidae)

Fonte: Adaptado de Van Driesche e Bellows (1996), Carvalho e Souza (2002) e Malais e Ravensberg (2004).

peradas, com destaque para a União Europeia (especialmente Holanda e Espanha), são os detentores do maior número de casos de êxito no controle biológico de pragas com o emprego de ácaros predadores em ambientes protegidos. No Brasil, ácaros predadores têm sido utilizados para controle de pragas em cultivos de morango e de plantas ornamentais. Algumas iniciativas para produção e comercialização de outros predadores, tais como o percevejo-pirata [*O. insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae)] e *C. externa* (Neuroptera: Chrysopidae), também estão sendo implementadas e poderão contribuir para a ampliação das possibilidades de uso de predadores em programas de controle biológico.

ESTRATÉGIAS PARA UTILIZAÇÃO DE PREDADORES

As principais estratégias de uso de predadores para o controle biológico de pragas nos agroecossistemas são as seguintes: importação (controle biológico clássico), inoculação, inundação e conservação das espécies nos ambientes (ver descrição das estratégias de controle biológico no Capítulo 1). Independentemente da estratégia a ser adotada, para que um programa de controle biológico com predadores seja eficiente, são necessários estudos prévios sobre a dinâmica das populações no sistema predador-presa. Vários fatores afetam a predação e, segundo Holling (1961), eles podem ser classificados em cinco grupos principais: a) densidade da presa; b) densidade do predador; c) características do ambiente (por exemplo, variedade de alimento alternativo); d) características da presa (por exemplo, seus mecanismos de defesa); e) características do predador (por exemplo, estratégias de ataque). Dois desses fatores, densidade da presa e densidade do predador, são características fundamentais em qualquer relação predador-presa e dão origem a dois componentes básicos da predação: a resposta numérica e a resposta funcional do predador (Holling, 1961).

A resposta funcional de um predador pode determinar se ele é capaz de regular a densidade populacional de sua presa (Hassel, 1978). Para que isso aconteça, o predador deve apresentar uma resposta funcional do tipo densidade dependente eficiente, ou seja, ele deve responder às altas densidades de presas sendo capaz de consumir uma proporção crescente delas, disponíveis em uma ampla faixa de densidades populacionais. A resposta numérica está relacionada com a capacidade do predador de alterar sua abundância em resposta ao crescimento populacional da presa, por meio de modificações em suas características vitais, como fecundidade, sobrevivência e longevidade. Em geral, o uso de predadores no controle biológico

tem sido limitado, em grande parte, pela falta de conhecimento da dinâmica populacional das pragas e de seus predadores nos diferentes agroecossistemas.

Os agroecossistemas podem ser manejados visando à manutenção e ao incremento de populações de inimigos naturais nas áreas de cultivo e em seu entorno. Essa estratégia, conhecida como controle biológico conservativo, requer conhecimento profundo da ecologia dos inimigos naturais e das comunidades das quais eles fazem parte (Jonsson et al., 2008). De acordo com Landis et al. (2000), cinco questões são consideradas chave para a manipulação dos habitat relacionados à conservação dos predadores: a) a seleção de espécies de plantas mais adequadas; b) o conhecimento dos comportamentos dos predadores que podem ser influenciados pela manipulação do ambiente; c) a escala espacial sobre a qual as melhorias no habitat irão operar, com implicações sobre área, forma e espaçamento de recursos e de refúgios para os predadores; d) os aspectos negativos associados com a adição de novas plantas em um agroecossistema, tais como a utilização dos recursos introduzidos (plantas) pelas pragas-alvo; e) o grau de adoção pelos produtores agrícolas das mudanças propostas para os ambientes.

Nas últimas décadas, em diversos países e também no Brasil, foram registradas evidências substanciais de que práticas de controle biológico conservativo podem atrair e manter os inimigos naturais nos agroecossistemas, levando a incrementos na riqueza de espécies de parasitoides e predadores nessas áreas (Tabela 3).

Tabela 3. Exemplos de programas de controle biológico conservativo utilizados com sucesso em diferentes cultivos e pragas-alvo no Brasil.

Cultivo	Prática agrícola	Praga-alvo	Predador	Fonte
Café	Sistemas agroflorestais com plantas fornecedoras de néctar extrafloral	Bicho-mineiro (<i>Leucoptera coffeella</i>) e broca-do-café (<i>Hypothenemus hampei</i>)	Vespas, joaninhas, tripes, formigas	Rezende et al. (2014)
Tomate	Associação com coentro	Mosca-branca (<i>Bemisia tabaci</i>)	Joaninhas	Togni et al. (2016)
Pimenta	Manutenção de plantas espontâneas	Pulgões (<i>Myzus persicae</i>)	Joaninhas, aranhas, crisopídeos	Amaral et al. (2013, 2016)
Couve	Associação com coentro	Pulgões	Joaninhas	Resende et al. (2010)

Em uma metanálise em que foram reunidos 268 estudos que envolveram o efeito da riqueza de espécies de inimigos naturais sobre os artrópodes-praga, Letourneau et al. (2009) mostraram que, em 71% dos casos, a riqueza teve efeito positivo sobre a supressão de pragas, particularmente nos ambientes agrícolas. No entanto, segundo Crowder e Jabbour (2014), nossa compreensão sobre as relações entre biodiversidade e controle biológico nos agroecossistemas e sobre os mecanismos envolvidos nessas relações é ainda muito limitada. Segundo esses autores, não está claro se comunidades mais diversas promovem o controle biológico porque os inimigos naturais tendem a agir de forma complementar ou de forma a facilitar a captura das presas pelas outras espécies, ou se comunidades mais diversas são mais propensas a conter espécies de inimigos naturais particularmente mais efetivas. Adicionalmente, ainda são poucos os estudos que mostram que incrementos nas populações de inimigos naturais nas áreas agrícolas resultam em diminuição de dano das pragas, aumento do rendimento/qualidade das culturas ou aumento dos rendimentos econômicos para os produtores (Jonsson et al., 2008; Rezende, 2014).

Com exceção do controle biológico conservativo, no qual o foco é a manipulação do ambiente para a manutenção de espécies de inimigos naturais, as demais formas de uso de predadores para controle de pragas demandam a criação massal desses predadores em condições artificiais para a liberação de forma inoculativa ou de forma inundativa, em que as liberações são feitas em larga escala, de forma similar aos inseticidas químicos. Algumas características importantes de predadores para uso no controle biológico de forma inoculativa ou inundativa são as seguintes: a) facilidade de criação e multiplicação em ambientes artificiais, presas alternativas ou dieta artificial; b) desenvolvimento rápido e ciclo de vida curto; c) plasticidade fenotípica para adaptação a diferentes condições ambientais; e d) elevada voracidade para promover altas taxas de mortalidade da praga em curto tempo. Outras características como longevidade dos adultos, dormência para aumentar sua capacidade de armazenamento enquanto aguarda seu uso e resistência a inseticidas químicos também são desejáveis do ponto de vista comercial e do manejo integrado da praga.

No controle biológico clássico, em que predadores exóticos são importados para introdução em áreas geográficas distintas, visando ao controle de pragas exóticas, geralmente buscam-se espécies de predadores menos generalistas, mais especializados na espécie ou grupo de espécies que se quer controlar. Assim, pode-se reduzir o risco de que a espécie introduzida cause impactos indesejáveis na comunidade local de artrópodes herbívoros não alvos da introdução da espécie exótica, ou mesmo artrópodes carnívoros, por causa da competição por presas e da predação intraguilda. Sob esse aspecto, também é importante verificar se existe a possibilidade de esse predador que está sendo importado sofrer predação nos locais

de liberação. Em razão da necessidade de criação massal para liberação e estabelecimento dos predadores exóticos nos agroecossistemas após sua introdução, características desejáveis para agentes de controle biológico como facilidade de criação, desenvolvimento rápido e sincronismo fenológico, citadas anteriormente, também se aplicam à seleção de predadores exóticos para o controle biológico clássico.

Outro aspecto importante no processo de seleção de espécies de predadores para uso nas diferentes estratégias de controle biológico é a necessidade ou não de alimento complementar, como néctar e pólen. Adultos de algumas espécies de predadores, principalmente as fêmeas, precisam complementar sua dieta com fontes de açúcares (néctar) e proteína (pólen) para a produção de ovos (Venzon et al., 2011). Assim, se esse predador está sendo selecionado para uso em uma cultura na qual a fonte desses recursos é limitada, a eficiência dessa espécie no controle da praga poderá ser reduzida.

DESAFIOS E PERSPECTIVAS

Os predadores necessitam de mais de uma presa para completar seu ciclo de vida e, na maior parte das vezes, são generalistas. Esta última característica representa uma vantagem, pois o agente de controle pode se manter na área na ausência da praga-alvo, uma vez que pode utilizar outras fontes de recurso alimentar, tais como presas alternativas ou mesmo alimento derivado de plantas (Stiling; Cornelissen, 2005).

Os avanços no conhecimento sobre interações predador-presa e a avaliação dos casos de sucesso de programas de controle biológico demonstram que os predadores, mesmo sendo generalistas, podem contribuir substancialmente para a regulação populacional de fitófagos (Symondson et al., 2002). Isso ocorre, pois, de modo geral, os predadores apresentam persistência no sistema, mesmo quando as populações das pragas estão em declínio, e também possuem hábitos alimentares que permitem a utilização de recursos alternativos (ex.: pragas secundárias) (Ehler, 1990). No entanto, a introdução de predadores generalistas deve ser objeto de análise de risco e avaliação de impacto cuidadoso, pois existe a possibilidade de sua liberação no ambiente causar o deslocamento e a extirpação local de outras espécies benéficas, assim como a possibilidade de a própria espécie introduzida se tornar uma praga. Um exemplo disso é a introdução da joaninha *H. axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae), espécie originária da Ásia e introduzida em vários países da Europa e da América do Norte, onde tornou-se um problema sério. Na América do Sul, essa espécie foi introduzida na

Argentina na década de 1990 e já invadiu países vizinhos, como Chile, Peru e o Brasil, onde causou impactos que ainda não foram totalmente avaliados.

A literatura recente permite compreender melhor a importância dos predadores, pois a teoria do controle biológico baseou-se, principalmente, em modelos que assumem especificidade na interação entre o agente de controle e sua presa. Essa característica é frequentemente encontrada entre os parasitoides (Symondson et al., 2002). Entretanto, os predadores podem ser importantes agentes de controle, associados ou não a outros, em programas de controle biológico. Avanços no conhecimento de aspectos bioecológicos dos predadores poderão garantir melhor compreensão e utilização desses agentes.

REFERÊNCIAS

- ALVARENGA, C. D.; VENDRAMIN, J. D.; CRUZ, I. Controle integrado de *Schizaphis graminum* (Rond.) em sorgo através de genótipos resistentes e do predador *Doru luteipes* (Scud.). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 24, n. 3, p. 507-516, 1995.
- AMARAL, D. S. S.; VENZON, M.; DUARTE, M. V. A.; SOUSA, F. F.; PALLINI, A.; HARWOOD, J. D. Non-crop vegetation associated with chili pepper agroecosystems promote the abundance and survival of aphid predators. **Biological Control**, v. 64, n. 3, p. 338-346, Mar. 2013. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2012.12.006.
- AMARAL, D. S. S.; VENZON, M.; SANTOS, H. H.; SUJII, E. R.; SCHMIDT, J. M.; HARWOOD, J. M. Non-crop plant communities conserve spider populations in chili pepper agroecosystems. **Biological Control**, v. 103, p. 69-77, 2016. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2016.07.007.
- BEGG, G. S.; COOK, S. M.; DYE, R.; FERRANTE, M.; FRANCK, P.; LAVIGNE, C.; LÖVEI, G. L.; MANSION-VAQUIE, A.; PELL, J. K.; PETIT, S.; QUESADA, N. A functional overview of conservation biological control. **Crop protection**, v. 97, p.145-158, July 2017. DOI: 10.1016/j.cropro.2016.11.008.
- BUENO, A. F.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F.; BUENO, R. C. O. F. Inimigos naturais das pragas da soja. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. (Ed.). **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. Brasília, DF: Embrapa, 2012. p. 493-629.
- CARDINALE, B. J.; DUFFY, E.; GONZALES, A.; HOOPER, D. U.; PERRINGS, C.; VENAIL, C.; NARWANI, A.; MACE, G. M.; TILMAN, D.; WARDLE, D. A.; KINZIG, A. P.; DAILY, G. C.; LOREAU, M.; GRACE, J. B.; LARIGAUDERIE, A.; SRIVASTAVA, D.; NAEEM, S. Biodiversity loss and its impacts on humanity. **Nature**, v. 486, p. 59-67, June 2012.
- CARVALHO, C. F.; SOUZA, B. Potencial de insetos predadores no controle biológico aplicado. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 191-208.
- CASTILHO, R. C.; DE MORAES, G. J.; SILVA, E. S.; FREIRE, R. A. P.; DA EIRA, F. C. The predatory mite *Stratiolaelaps scimitus* as a control agent of the fungus gnat *Bradysia matogrossensis* in commercial production of the mushroom *Agaricus bisporus*. **International Journal of Pest Management**, v. 55, p.181-185, 2009. DOI: 10.1080/09670870902725783.

- CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. Potencial de consumo dos principais insetos predadores ocorrentes na cultura da soja. In: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Resultados de pesquisa de soja 1984/85**. Londrina, 1985. p. 79. (EMBRAPA-CNPSo. Documentos, 15).
- COULSON, J. R.; KLAASEN, W.; COOK, R. J.; KING, E. G.; CHIANG, H. C.; HAGEN, K. S.; YENDOL, W. G. Notes on biological control of pests in China. In: BIOLOGICAL control of pests in China, Washington, DC: USDA, 1982. p. 1-192.
- CROWDER, D. W.; JABBOUR, R. Relationships between biodiversity and biological control in agroecosystems: current status and future challenges. **Biological Control**, v.75 p. 8-17, Aug. 2014. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2013.10.010.
- CRUZ, I.; ALVARENGA C. D.; FIGUEIREDO, P. E. F. Biologia de *Doru luteipes* (Scudder) e sua capacidade predatória de ovos de *Helicoverpa zea* (Boddie). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 24, n. 2, p. 273-278. 1985.
- EHLER, L. E. Introduction strategies in biological control of insects. In: MACKAUER, M.; EHLER, L. E.; ROLAND, J. (Ed.). **Critical issues in biological control**. Andover: Intercept, 1990. p. 111-134.
- FERREIRA, J.; PARDINI, R.; METZGER, J. P.; FONSECA, C. R.; POMPEU, P. S.; SPAROVEK, G., LOUZADA, J. Towards environmentally sustainable agriculture in Brazil: challenges and opportunities for applied ecological research. **Journal of Applied Ecology**, v. 49, p. 535-541, Apr. 2012. DOI: 10.1111/j.1365-2664.2012.02145.x.
- FLINT, M. L.; DREISTADT, S. H. **Natural enemies handbook**: the illustrated guide to biological pest control. Berkeley: University of California Press, 1998. 154 p.
- FUTUYMA, D. J. **Biologia evolutiva**. 2. ed. Ribeirão Preto: SBG: CNPq, 1992. 631 p.
- GARCIA, M. A. Ecologia nutricional de parasitóides e predadores terrestres. In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. (Ed.). **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo: Manole, 1991. p. 289-311.
- HAGEN K. S. Nutritional ecology of terrestrial insect predators. In: SLANSKY JUNIOR, F.; RODRIGUEZ J. G. (Eds): **Nutritional ecology of insects, mites, spiders and related invertebrates**. New York: John Wiley & Sons, 1987. p. 533-577.
- HASSELL, M. P. **The dynamics of arthropod predator prey-Systems**. Princeton: Princeton University Press, 1978. 237 p.
- HOLLING, C. S. Principles of insect predation. **Annual Review of Entomology**, v. 6, p.163-182, 1961.
- HOLLING, C. S. Some characteristics of simple types of predation and parasitism. **The Canadian Entomologist**, v. 91, p. 385-398, July 1959. DOI: 10.4039/Ent91385-7.
- HÖRSTADIUS, S. Linnaeus, animals and man. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 6, p. 269-275, 1974. DOI: 10.1111/j.1095-8312.1974.tb00725.x.
- JONSSON, M.; WRATTEN, S. D.; LANDIS, D. A.; GURR, G. M. Recent advances in conservation biological control of arthropods by arthropods **Biological Control**, v. 45, n. 2, p. 172-175, May 2008. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2008.01.006.
- KOCAREK, P.; DVORAK, L.; KIRSTOVA, M. *Euborellia annulipes* (Dermaptera: Anisolabididae), a new alien earwig in Central European greenhouses: potential pest or beneficial inhabitant? **Applied Entomology and Zoology**, v. 50, n. 2, p. 201-206, May 2015.
- LANDIS, D. A.; WRATTEN, S. D.; GURR, G. M. Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. **Annual Review of Entomology**, v. 45, p. 175-201, Jan. 2000. DOI: 10.1146/annurev.ento.45.1.175.

- LETOURNEAU, D. K.; JEDLICKA, J. A.; BOTHWELL, S. G.; MORENO, C. R. Effects of natural enemy biodiversity on the suppression of arthropod herbivores in terrestrial ecosystems. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 40, p. 573–592, 2009. DOI: 10.1146/annurev.ecolsys.110308.120320.
- MALAIS, M. H.; RAVENSBERG, W. J. **Knowing and recognizing**: the biology of glasshouse pests and their natural enemies. [S.l.]: Reed Business Information, 2004. 288 p.
- MIRANDA, J. E. **Manejo integrado de pragas do algodoeiro no cerrado brasileiro**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2006. 24 p. (Embrapa Algodão. Circular técnica, 98).
- MORAES, G. V. J.; FLECHTMANN, C. H. W. **Manual de acarologia**: acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil. Ribeirão Preto: Holos, 2008. 288 p.
- MURDOCH, W. W.; OATEN, A. Predation and population stability. **Advances in Ecological Research**, v. 9, p. 1-131, 1975. DOI: /10.1016/S0065-2504(08)60288-3.
- OLIVEIRA, N. C.; WILCKEN, C. F.; MATOS, C. A. O. Ciclo biológico e predação de três espécies de coccinélidos (Coleoptera, Coccinellidae) sobre o pulgão-gigante-do-pinus *Cinara atlantica* (Wilson) (Hemiptera, Aphididae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v.48, p.529-533, 2004.
- O'NEIL, R. J.; WIEDENMANN, R. N. Adaptations of arthropod predators to agricultural systems. **Florida Entomological Society**, v. 70, n. 1, p. 40-48, 1987. DOI: 10.2307/3495089.
- PIRES, E. M.; PINTO, R.; SOARES, M. A.; SANTOS, G. P.; ZANUNCIO, T. V.; ZANUNCIO, J. C. **Produção de percevejos predadores**. [S.l.]: Ed. Suprema, 2009. 56 p.
- PRICE, P. W., BOUTON, C. E.; GROSS, P.; MCPHERON, B. A.; THOMPSON, J. N.; WEIS, A. E. Interactions among three trophic levels: influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies. **Annual review of Ecology and Systematics**, v. 11, p. 41-65, 1980.
- REIS, L. L.; OLIVEIRA, L. J.; CRUZ, I. Biologia e potencial de *Doru luteipes* no controle de *Spodoptera frugiperda*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 23, p.333-342, 1988.
- RESENDE, A. L. S.; VIANA, A. J. S.; OLIVEIRA, R. J.; AGUIAR-MENEZES, E. L.; RIBEIRO, R. L. D.; RICCI, M. S. F.; GUERRA, J. G. M. Consórcio couve-coentro em cultivo orgânico e sua influência nas populações de joaninhas. **Horticultura Brasileira** v. 28, p. 41-46, 2010.
- REYNOLDS P. G.; CUDDINGTON K. Effects of plant gross morphology on predator searching behaviour. **Environmental Entomology**, v. 41, n. 3, p. 516-22, 2012. DOI: 10.1603/EN11179.
- REZENDE, M. Q.; VENZON, M.; PEREZ, A. L.; CARDOSO, I. M.; JANSSEN A. Extrafloral nectaries of associated trees can enhance natural pest control. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 188, p. 198–203, 2014. DOI: 10.1016/j.agee.2014.02.024.
- RICKLEFS, R. E. A. **A economia da natureza**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016. 624 p.
- SILVA, D. B.; BUENO, V. H. P.; MONTES, F. C.; VAN LENTEREN J. C. Population growth of three mirid predator bugs feeding on eggs and larvae of *Tuta absoluta* on tomato. **BioControl**, v. 61, n. 5, p. 545-553, Oct. 2016.
- SOMMAGGIO, D. Syrphidae: can they be used as environmental bioindicators? **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 74, n. 1-3, p. 343-356, 1999. DOI:10.1016/B978-0-444-50019-9.50019-4.
- SPARKS, A. N.; ABLES, J. R.; JONES, R. I. Notes on biological control of stem borer in corn, sugarcane, and rice in the People's Republic of China. In: BIOLOGICAL control of pests in China, Washington, DC: USDA, 1982. p. 193-215.
- STILING, P. Density-Dependent processes and key factors in insect populations. **Journal of Animal Ecology**, v. 57, n. 2, p. 581-593, Jun. 1988. DOI: 10.2307/4926.

STILING, P. Why do natural enemies fail in classical biological control programs? **American Entomologist**, v. 39, n. 1, p. 31-37, Spring 1993. DOI: 10.1093/ae/39.1.31.

STILING, P.; CORNELISSEN, T. What makes a successful biocontrol agent? A meta-analysis of biological control agent performance. **Biological Control**, v. 34, n. 3, p. 236-246, Sept. 2005. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2005.02.017.

SYMONDSON, W. O. C.; SUNDERLAND, K. D.; GREENSTONE, M. H. Can generalist predators be effective biocontrol agents? **Annual Review of Entomology**, v. 47, n. 1, p. 561-594, Jan. 2002. DOI:10.1146/annurev.ento.47.091201.145240.

TOGNI, P. H. B.; VENZON, M.; MUNIZ, C. A.; MARTINS, E. F.; A PALLINI; SUJII, E. R. Mechanisms underlying the innate attraction of an aphidophagous coccinellid to coriander plants: Implications for conservation biological control. **Biological Control**, v. 92, p. 77-84, 2016. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2015.10.002.

TORRES, J. B.; BASTOS, C. S.; PRATISSOLI, D. Controle biológico de pragas com uso de insetos predadores. **Informe Agropecuário**, v. 30, n. 251, p. 17-32, jul./ago. 2009.

VAN DRIESCHE, R. G.; BELLOWS JR, T. S. **Biological Control**. New York: Chapman & Hall, 1996. 539 p.

VENZON, M.; AMARAL, D. S. S. L.; PEREZ, A. L.; RODRÍGUEZ-CRUZ, F. A.; TOGNI, P. H. B.; OLIVEIRA, R. F. O. **Identificação e manejo ecológico de pragas da cultura da pimenta**. Belo Horizonte: Epamig, 2011. 40 p.

WAAGE, J. Ecological theory and the selection of biological control agents. In: MACKAUER, M.; EHLER, L. E.; ROLAND, J. (Ed.). **Critical issues in biological control**. Andover: Intercept, 1990. p. 135-157.

WAQUIL, J. M.; VIANA, P. A.; CRUZ, I. **Cultivo do milho: manejo integrado de pragas (MIP)**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2002. 16 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Comunicado técnico, 50).

CAPÍTULO 5

Controle de artrópodes-praga com ácaros predadores

Denise Navia
Raphael de Campos Castilho
Gilberto José de Moraes

Os ácaros são artrópodes quelicerados da classe Arachnida, subclasse Acari. Constituem o segundo maior grupo de artrópodes, depois dos insetos. No primeiro estágio após a fase de ovo, apresentam tipicamente três pares de pernas, passando a apresentar quatro pares em outros estágios; cada perna normalmente tem seis segmentos; as coxas dos pedipalpos são fundidas e, juntamente com as quelíceras, constituem uma região chamada gnátossoma; o corpo é não segmentado (Figura 1). A maioria dos ácaros apresenta tamanho bastante reduzido, não ultrapassando 0,5 mm de comprimento. Os ácaros têm colonizado praticamente todos os ambientes terrestres e alguns aquáticos, e apresentam forma de vida livre ou parasitária. Além da diversidade de ambientes e de formas de vida, os ácaros também apresentam hábitos alimentares extremamente diversos, podendo ser fitófagos, saprófagos, fungívoros, endo e ectoparasitas de vertebrados e invertebrados (Moraes; Flechtmann, 2008; Krantz; Walter, 2009; Walter; Proctor, 2013). Nos agroecossistemas, seja no solo seja na parte aérea de plantas, podem ser extremamente numerosos. As espécies filófagas podem causar danos diretos ou indiretos (ex.: transmissão de vírus) aos seus hospedeiros, assumindo importância fitossanitária. Os ácaros predadores podem se alimentar de ácaros fitófagos e de pequenos insetos, representando eficientes agentes de controle biológico de pragas (Moraes; Flechtmann, 2008; Hoy, 2011; Carrillo et al., 2015).

A utilização de ácaros predadores para o controle de pragas agrícolas iniciou-se nos anos 1960, em cultivos protegidos de hortaliças da Europa Central, para o controle do ácaro-rajado [*Tetranychus urticae* Koch (Tetranychidae)]. Explosões po-

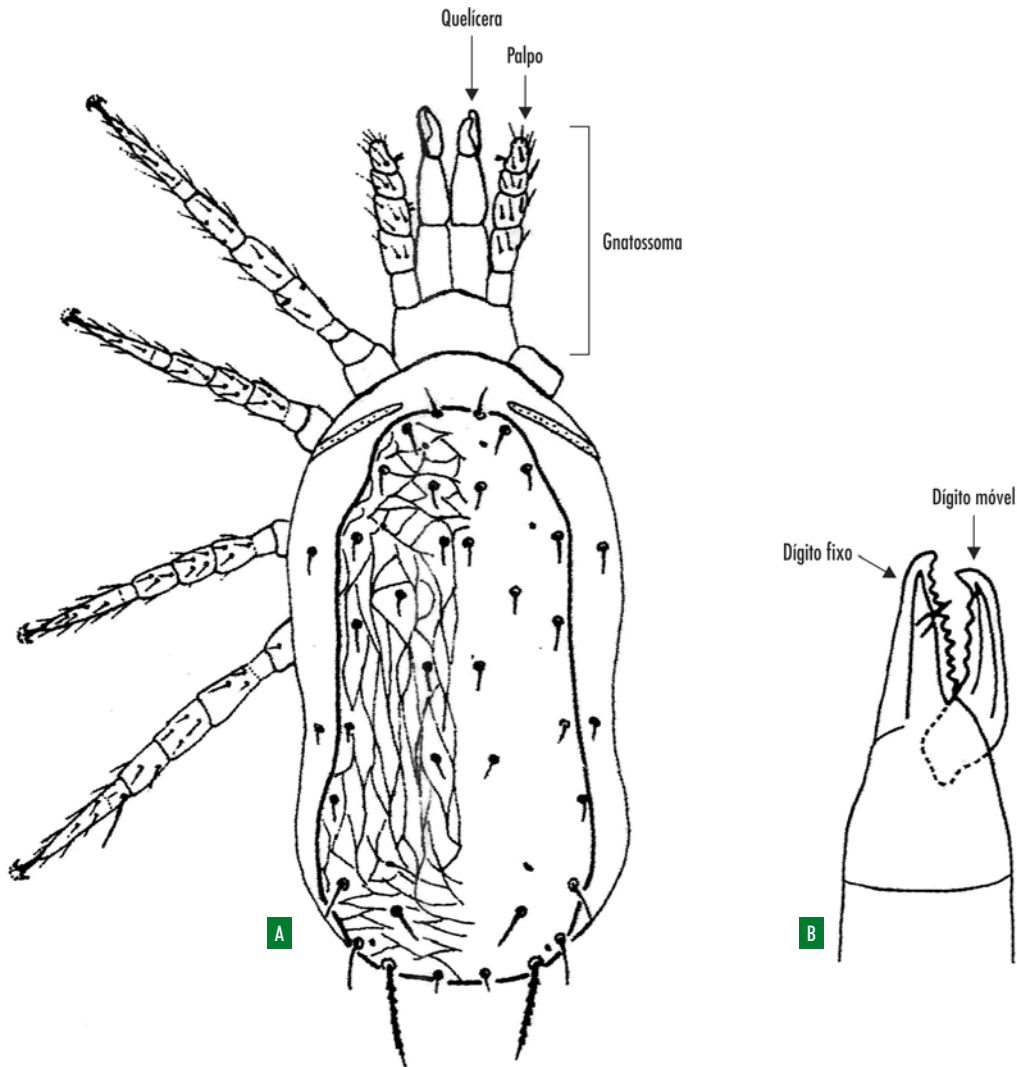


Figura 1. Esquema do corpo (A) e da quelícera (B) de um ácaro predador da ordem Mesostigmata.

Fonte: Adaptado de Moraes e Flechtmann (2008).

pulacionais do ácaro-rajado tornaram-se frequentes, sobretudo após a introdução do diclorodifeniltricloroetano (DDT) nos anos 1940 e, posteriormente, com o uso abusivo de organofosforados, que levou ao desenvolvimento de resistência nas populações dessa praga. Esses problemas motivaram a realização de estudos que resultaram na observação de ácaros e insetos predadores em colônias de ácaros-rajados, evidenciando sua importância para a redução das populações. Em seguida, o pesquisador alemão G. Dosse encontrou o ácaro predador *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Phytoseiidae) em lotes de plantas de orquídeas provenientes do Chile. O pesquisador multiplicou esses predadores e os distribuiu a colegas de vários

países europeus, os quais reconheceram sua eficiência no controle do ácaro-rajado. Ensaios em grande escala foram realizados em cultivos de pepino em casas de vegetação na Inglaterra. As primeiras iniciativas para produção massal de *P. persimilis*, isto é, produção de grande número de indivíduos em reduzido espaço, foram levadas a cabo por produtores dessa cultura no Reino Unido. Em 1969, o produtor holandês J. Koppert, ao visitar instalações de produção do predador, foi motivado a investir em seu potencial como agente de controle biológico. Sua empresa aprimorou o método de produção, o que impulsionou a comercialização desses inimigos naturais e continua sendo uma das principais produtoras no ramo (Ferragut et al., 2010).

Simultaneamente a esses avanços na produção massal de ácaros predadores na Europa, estudos para o manejo de espécies de ácaros predadores nativos foram realizados nos EUA. Em pomares de macieiras em Michigan, foram aplicadas técnicas de conservação que favoreciam as populações do fitoseídeo *Neoseiulus fallacis* (Garman) para o controle de ácaros fitófagos tetraniquídeos, especialmente de *Panonychus ulmi* (Koch). Esses predadores eram tolerantes a inseticidas de amplo espectro e alimentavam-se de presas alternativas em períodos de escassez das presas-alvo (Ferragut et al., 2010).

Além da utilização dos ácaros predadores em programas de controle biológico por meio do uso de táticas de aumento e conservação, esses também começaram a ser utilizados em programas de controle biológico clássico. Pode-se citar como iniciativa de sucesso a introdução, em 1975, de *Euseius stipulatus* (Athias-Henriot) (Phytoseiidae) na Califórnia (EUA), a partir de espécimes provenientes da Espanha, para o controle de *Panonychus citri* (McGregor) (Tetranychidae) em cultivos de citros (Moraes, 1991; Oliveira; Moraes, 2011).

CLASSIFICAÇÃO TAXONÔMICA E PRINCIPAIS FAMÍLIAS

Os ácaros estão classificados em duas superordens – Parasitiformes e Acariformes (Lindquist et al., 2009a). Os ácaros predadores atualmente mais utilizados em programas de controle biológico pertencem a famílias da superordem Parasitiformes, ordem Mesostigmata. Entretanto, várias famílias de Acariformes, ordem Trombidiformes, subordem Prostigmata, também são constituídas exclusivamente por, ou incluem, predadores (Krantz; Walter, 2009).

Várias características morfológicas diferenciam essas superordens, entre as quais se destacam: posição da abertura do sistema respiratório (estigma – geralmente posterior à coxa III em Parasitiformes e ausente ou anterior à coxa II em

Acariformes) e mobilidade das coxas das pernas (fundidas à região ventral do corpo em Acariformes e livres em Parasitiformes) (Krantz; Walter, 2009). De maneira geral, os ácaros predadores Parasitiformes apresenta o corpo mais esclerotizado que os Acariformes.

Ácaros predadores de pequenos artrópodes, incluindo outros ácaros, pequenos insetos ou colêmbolas (pequenos artrópodes ápteros e hexápodes que vivem principalmente no solo), e nematoides têm sido relatados em pelo menos 41 famílias de Acari (26 da superordem Parasitiformes, ordem Mesostigmata; 15 da superordem Acariformes, ordem Trombidiformes) (Tabela 1). Entre essas, destacam-se Phytoseiidae, Laelapidae e Macrochelidae (Parasitiformes, Mesostigmata), às quais pertencem espécies que vêm sendo comercializadas como agentes de controle biológico. Além dessas, podem-se também destacar Stigmaeidae, Bdellidae e Cunaxidae (Acariformes, Trombidiformes), como famílias de predadores que contribuem para o equilíbrio natural nos agroecossistemas (Gerson et al., 2003; Carrillo et al., 2015).

Tabela 1. Principais famílias de ácaros que incluem espécies predadoras de pequenos artrópodes e/ou nematoides, nas ordens Mesostigmata e Trombidiformes.

Ordem	Família
Mesostigmata	Arctacaridae, Ascidae, Blattisociidae, Digamasellidae, Euzerconidae, Eviphididae, Heatherellidae, Heterozerconidae, Laelapidae, Laptolaelapidae, Macrochelidae, Megisthanidae, Melicharidae, Ologamasidae, Otopheidomenidae, Pachylaelapidae, Parasitidae, Parholaspidae, Phytoseiidae, Podocinidae, Rhodacaridae, Sejidae, Triplogyniidae, Uropodidae, Veigaiidae e Zerconidae
Trombidiformes	Anystidae, Bdellidae, Camerobiidae, Cheyletidae, Cunaxidae, Erythraeoidea, Eupallopsellidae, Eupodidae, Iolinidae, Labidostomatidae, Paratydeidae, Rhagidiidae, Stigmaeidae, Triophtydeidae e Tydeidae

Fonte: Adaptado de Gerson et al. (2003), Carrillo et al. (2015), Castilho et al. (2015) e Hernandez et al. (2015).

Entre os ácaros predadores, a família Phytoseiidae é a que tem maior número de espécies descritas, provavelmente por ser a mais estudada. São conhecidas atualmente cerca de 2.500 espécies nessa família (Demite et al., 2017), que é dividida em três subfamílias – Amblyseiinae Muma, Phytoseiidae Berlese e Typhlodrominae Wainstein – e 92 gêneros (Chant; McMurtry, 2007; Demite et al., 2014). Amblyseiinae é a maior subfamília (1.748 espécies distribuídas em 65 gêneros). Typhlodrominae conta com 732 espécies em 24 gêneros, e Phytoseiinae com 229 espécies em três gêneros. Os gêneros mais numerosos são os seguintes: *Typhlodromus* Scheuten (454 espécies), *Amblyseius* Berlese (400), *Neoseiulus* Hughes (397), *Phytoseius* Ribaga (222), *Euseius* De Leon (213) e *Proprioseiopsis* Muma (163). *Amblyseius* é o gênero com maior número de espécies nas regiões neotropicais (Demite et al., 2017). A chave taxonômica mais utilizada para

identificação de gêneros de Phytoseiidae foi publicada por Chant e McMurtry (2007). Demite et al. (2017) estruturaram uma base de dados¹ com informação taxonômica sobre todas as espécies da família.

A família Laelapidae, que inclui ácaros predadores e também parasitos associados a artrópodes e vertebrados (mamíferos e aves), inclui cerca de 1.300 espécies classificadas em 11 subfamílias e 90 gêneros (Beaulieu et al., 2011). Os Laelapidae predadores, de interesse para o controle biológico de pragas, pertencem à subfamília Hypoaspidinae e são encontrados principalmente no solo. Os gêneros de maior interesse no controle biológico são *Androlaelaps* Berlese, *Gaeolaelaps* Evans & Till e *Stratiolaelaps* Berlese (Moreira; Moraes, 2015).

A família Macrochelidae é constituída por predadores. Os ácaros dessa família são encontrados principalmente em excrementos ou em animais em decomposição, além de ninhos ou galerias de insetos sociais, mamíferos e pássaros. Apresenta cerca de 480 espécies distribuídas em 23 gêneros. A maior diversidade é encontrada no gênero *Macrocheles* Latreille (320 espécies), cujo potencial de predação tem sido o mais estudado, havendo ainda alguma informação sobre espécies de *Glyphtholaspis* Filipponi & Pegazzano (Lindquist et al., 2009b; Azevedo et al., 2015).

Entre os Acariformes, Cheyletidae é a família de ácaros predadores mais comum e abundante em produtos armazenados. A maioria das espécies dessa família é predadora de microartrópodes, os quais são comumente encontrados em depósitos de grãos, rações ou outros alimentos (Hughes, 1976). Além disso, algumas espécies são muito comuns sobre plantas, em associação com pequenos insetos, como cochonilhas. Estima-se que atualmente essa família seja constituída por cerca de 370 espécies distribuídas em 74 gêneros (Athanassiou; Palyvos, 2015). Espécies do gênero *Cheyletus* Latreille têm sido consideradas promissoras como agentes de controle biológico de pragas de produtos armazenados.

Ácaros da família Stigmaeidae têm sido coletados em uma grande variedade de habitats (Fan et al., 2016). Essa família atualmente é composta por 577 espécies de 34 gêneros. Mais de 35% dessas espécies são plantícolas e predadoras, vivendo em folhas e ramos, destacando-se os gêneros *Agistemus* Summers (84 espécies) e *Zetzellia* Oudemans (29 espécies) (Fan et al., 2016). Alguns estudos mostraram que esses ácaros podem apresentar controle efetivo de ácaros fitófagos. No Brasil, membros dessa família têm sido relatados como importantes predadores de insetos e ácaros em culturas de grande importância econômica, como café, citros, goiaba, maçã e seringueira (Matioli et al., 1998, 2002, 2007; Ferla; Moraes, 2003).

¹ Disponível em: <<http://www.lea.esalq.usp.br/phytoseiidae/>>.

Os ácaros da família Bdellidae são predadores de pequenos artrópodes, como colêmbolas, larvas de dípteros (moscas) e outros ácaros. Quase 300 espécies são hoje conhecidas nessa família (Hernandes et al., 2016). *Bdella* Latreille, *Odontoscirus* Thor (= *Bdellodes* Oudemans) e *Neomolgus* Oudemans são gêneros comuns dessa família. Bdelídeos têm sido estudadas sobretudo para o controle de colêmbolas no solo. Além disso, esses ácaros predadores podem também ser encontrados em plantas (Hernandes et al., 2015).

Os ácaros da família Cunaxidae são predadores generalistas de artrópodes e nematoides e podem estar presentes em plantas ou no solo (Gerson et al., 2003; Walter; Proctor, 2013). Essa família é atualmente composta por cerca de 375 espécies (Skvarla et al., 2014). Na região neotropical, menos de 30 espécies são conhecidas. O principal gênero dessa família considerado como agente de controle biológico é *Coleoscirus* Berlese, entretanto a relevância desses ácaros ainda está sendo avaliada (Hernandes et al., 2015).

IMPORTÂNCIA DA IDENTIFICAÇÃO ACURADA DOS ÁCAROS PREDADORES

Uma acurada identificação dos agentes de controle biológico constitui o primeiro passo para um programa bem-sucedido, pois uma identificação imprecisa pode levar a falhas no uso dos mesmos. A identificação taxonômica da maioria dos grupos de ácaros, incluindo os predadores, tem sido tradicionalmente baseada em caracteres morfológicos, especialmente das fêmeas adultas (Chant; McMurtry, 2007). Entretanto a utilização exclusiva desses caracteres apresenta limitações, especialmente no caso de espécies crípticas, isto é, espécies que são morfológicamente tão próximas a ponto de serem facilmente confundidas. As espécies crípticas podem apresentar características bioecológicas muito distintas, que afetariam sua utilização no controle de pragas (Chant, 1955; Tixier et al., 2006). Por meio de ferramentas moleculares, a ocorrência de espécies crípticas tem sido revelada entre táxons da família Phytoseiidae (Tixier et al., 2011; Famah-Sourassou et al., 2012), principal família de ácaros predadores. A integração de métodos moleculares à morfologia é extremamente importante para a identificação desses ácaros e, portanto, para o sucesso dos programas de controle biológico.

Além da identificação no que se refere à espécie, a caracterização de categorias infraespecíficas é, muitas vezes, igualmente importante. Populações geográficas de um inimigo natural, comumente chamadas de linhagens, podem apresentar

diferenças biológicas e/ou comportamentais que afetam seu desempenho no controle das pragas (Furtado et al., 2007; Navia et al., 2014). As diferenças biológicas entre linhagens de ácaros fitoseídeos, as quais podem favorecer o sucesso do controle, têm sido associadas a diferenças genéticas entre elas (Tixier et al., 2010). Uma linhagem de *Phytoseiulus longipes* Evans da África do Sul foi ineficiente para o controle do ácaro-vermelho do tomateiro (*Tetranychus evansi* Baker & Pritchard) na África. Entretanto, foi demonstrado que *T. evansi* era um alimento apropriado para populações de *P. longipes* coletadas no sul do Brasil e no norte da Argentina (Furtado et al., 2007). Visando ao controle biológico clássico do ácaro-vermelho das palmeiras (*Raoiella indica* Hirst), invasor nas Américas, foram avaliadas populações do ácaro fitoseídeo *Amblyseius largoensis* (Muma) da Ilha da Reunião (Oceano Índico) e do Brasil. Verificou-se que, apesar de o tempo de desenvolvimento e de a viabilidade total das duas populações serem próximos, a população oriunda da Ilha da Reunião apresentou taxa de predação muito mais elevada que a da população de Roraima (Domingos et al., 2013). A caracterização molecular dessas populações de *A. largoensis* evidenciou que as mesmas constituem linhagens genéticas distintas de *A. largoensis* (Navia et al., 2014). Em Israel, a linhagem de *P. persimilis* mostrou-se mais tolerante a baixos níveis de umidade que outra linhagem da Califórnia, EUA (Perring; Lackey, 1989). Essa característica afeta significativamente a sobrevivência dos ácaros no campo. Portanto, a caracterização molecular de populações de ácaros predadores e sua correlação com características biológicas também são importantes para o sucesso dos programas de controle biológico.

Tanto a identificação molecular da espécie dos ácaros predadores fitoseídeos, quanto a caracterização de categorias infraespecíficas têm sido realizadas por meio de uma abordagem de DNA *barcoding*, isto é, a partir de sequências curtas de DNA de regiões do genoma mitocondrial ou nuclear (marcadores genéticos). De acordo com Santos e Tixier (2016), os marcadores citocromo oxidase subunidade I (COI), citocromo oxidase B (CytB) e 12S rRNA, do DNA mitocondrial, bem como os espaçadores internos transcritos I e II (ITS1 e ITS2), do DNA nuclear, podem ser utilizados para o diagnóstico de ácaros fitoseídeos. Os autores recomendam a utilização de, ao menos, um marcador mitocondrial e um nuclear para obtenção de maior consistência nas análises. Os iniciadores (em inglês *primers*) e protocolos utilizados nas reações em cadeia da polimerase (do inglês *polymerase chain reaction* – PCR) para amplificação e obtenção das sequências de DNA desses marcadores são apresentados por esses autores.

Primers

Segmentos de DNA necessários à iniciação da replicação do DNA pela enzima DNA polimerase.

PCR

Técnica utilizada em biologia molecular para amplificar uma única cópia ou algumas cópias de um segmento de DNA, gerando de milhares a milhões de cópias de determinada sequência de DNA.

CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS E ECOLÓGICAS

Os ácaros predadores, tanto Mesostigmata quanto Prostigmata, antes de chegarem ao estágio adulto passam pelos estágios de ovo, larva, protoninfa e deutoninfa. O aspecto geral e o comportamento de suas principais famílias permitem a distinção desses ácaros com uma lupa de mão ou ao microscópio estereoscópico. Seu tamanho se compara ao de muitos ácaros fitófagos ou micófagos, pouco menos que 0,5 mm de comprimento. Entretanto, em sua maioria, os ácaros predadores movimentam-se mais rapidamente que os ácaros fitófagos, micófagos ou saprófagos. Fatores como ciclo de vida, substrato, modo de reprodução, taxa de crescimento intrínseco e hábitos alimentares dos ácaros predadores são bastante variáveis entre as famílias e até entre gêneros e espécies de uma mesma família.

Ácaros predadores da ordem Mesostigmata

A forma das quelíceras dos ácaros Mesostigmata é mais primitiva, ou seja, possuem a forma de quela (pinça), e são utilizadas para apanhar suas presas. Aspectos biológicos e ecológicos desses ácaros são, de longe, mais conhecidos para os da família Phytoseiidae, por constituírem a principal família de ácaros predadores plânticos e a mais utilizada no controle de pragas em geral.

Família Phytoseiidae

Os fitoseídeos adultos são geralmente um pouco maiores que os adultos do ácaro-rajado (cerca de 0,5 mm de comprimento) e distinguem-se por se moverem mais rapidamente que a maioria de outros ácaros que vivem nas plantas. Usualmente apresentam o corpo brilhante, de coloração variável, com predomínio do marrom-claro ao amarelo-claro. Esses ácaros podem ter o corpo bastante esclerotizado, apresentando um escudo (região mais esclerotizada) dorsal e vários escudos ventrais. A forma do corpo dos fitoseídeos, que também é bastante variável, pode ser subcircular, piriforme ou alongada. O comprimento das setas pode ser curto ou longo. Os ovos dos ácaros fitoseídeos são pouco alongados, inicialmente translúcidos, passando gradualmente a leitosos. Em condições de campo, esses ácaros são encontrados principalmente na face inferior das folhas, pelo seu comportamento fototrópico negativo, e a maioria é encontrada nas proximidades das nervuras maiores, onde ficam protegidos em depressões ou em

Quelíceras

Primeiro par de apêndices articulados do prosoma ao lado da abertura oral (Figura 1).

domácias (Moraes; Flechtmann, 2008; McMurtry et al., 2013). Assim como outros Mesostigmata, os fitoseídeos utilizam o primeiro par de pernas como estrutura sensorial para o reconhecimento das presas e do ambiente. Ao caminharem, levantam constantemente essas pernas, como se para captar estímulos do ambiente.

Com alimentação adequada e sob condições ambientais favoráveis (25 °C, 70%-90% UR), o desenvolvimento da fase imatura pode se completar em até 5 dias, o mais comum, porém, é levar de 7 a 10 dias. Fêmeas de Phytoseiidae podem pôr até 4 ovos por dia, como observado para espécies de *Phytoseiulus* Evans. Entretanto, o mais usual é a oviposição de 1 a 2 ovos ao dia (McMurtry et al., 2015). Durante seu ciclo de vida, cada fêmea geralmente produz de 30 a 40 ovos, no entanto, para algumas espécies, a oviposição pode ser de até 80 ovos (Tanigoshi, 1982; Sabelis, 1985). Os adultos geralmente vivem entre 20 e 30 dias. Para a maioria dos fitoseídeos, a reprodução ocorre por um processo conhecido como pseudoarrenotoquia ou para-haploidia. Nesse processo, as fêmeas necessitam copular para realizar a oviposição, e os ovos fertilizados são inicialmente diploides. Após a perda do conjunto de cromossomos recebidos do pai, alguns dos ovos passam a haploides, gerando ácaros do sexo masculino, enquanto os ovos que permanecem diploides produzirão as fêmeas (Moraes; Flechtmann, 2008). Em regiões de clima quente, o desenvolvimento e a reprodução podem ocorrer ao longo de todo o ano, no entanto, em regiões de clima temperado, as fêmeas fertilizadas dos fitoseídeos podem entrar em diapausa (tipo de dormência controlada por fatores fisiológicos que retarda o desenvolvimento) no inverno.

Apesar de não terem sido realizados experimentos detalhados, observações têm indicado que a taxa de dispersão dos ácaros fitoseídeos é alta por meios naturais, quando o alimento se torna escasso. Nessa condição, os fitoseídeos se movem para as partes expostas das plantas em que se encontram, deixando-se levar pelo vento. Fêmeas recém-emergidas já foram observadas com o corpo ereto sobre o substrato e com as pernas anteriores elevadas, facilitando seu transporte pelo vento; essa postura é típica de dispersão para ácaros plantícolas (Moraes; Flechtmann, 2008). Ao chegar sobre outra planta, procuram suas presas orientados por estímulos químicos emanados pela própria presa e/ou pela planta atacada. A atração dos ácaros predadores por voláteis emitidos pela planta hospedeira que está sendo atacada pelos herbívoros (presas potenciais) foi primeiramente estudada para os ácaros predadores *P. persimilis* e *Amblyseius* Chant, em plantas de feijão infestadas pelo ácaro-rajado (*T. urticae*). Esses mesmos estudos mostraram que as presas isoladamente também eram capazes de atrair esses predadores (Dicke et al., 1990a, 1990b).

Domácias

Estruturas presentes nas folhas de diversas espécies de plantas, em forma de tufo de pelos e/ou cavidades localizadas nas junções entre a nervura principal e as secundárias, na face abaxial das folhas.

Um dos fatores que possibilitam que os fitoseídeos mantenham as pragas em baixos níveis populacionais se refere à sua capacidade relativamente elevada de aumento populacional, associada à sua necessidade relativamente baixa de consumo diário de presas – usualmente não mais que 20 a 25 ovos de ácaros tetraniquídeos. O primeiro fator leva a uma resposta numérica rápida quando a praga se encontra em altos níveis populacionais, enquanto o segundo permite a persistência do predador quando o nível populacional da praga começa a baixar, mas ainda é capaz de causar danos às plantas.

Outras famílias de predadores Mesostigmata

Laelapidae – Muitos dos predadores desta família são edáficos. Para diversas espécies de Laelapidae, tem-se observado que, em temperatura de 25 °C, o desenvolvimento do ovo até a fase adulta se dá em torno de 7 dias. Nessa temperatura, as fêmeas podem produzir até sete ovos ao dia. Os adultos dos predadores desta família se alimentam de outros ácaros, pequenos insetos, nematoides, anelídeos e colêmbolas. Tem sido observado que algumas espécies de Laelapidae podem sobreviver longos períodos sem alimento (Ignatowicz, 1974; Norton et al., 1993). Protoninfas, deutoninfas e adultos de espécies do gênero *Stratiolaelaps* podem sobreviver sem alimento cerca de 12, 22 e 24 dias, respectivamente, sob temperatura de 20 °C. Após 14 dias sem alimentação, o canibalismo tem sido observado em todos os estágios de desenvolvimento (Berndt et al., 2003). Algumas espécies têm sido produzidas em larga escala para uso no controle de pragas, especialmente para o controle de larvas de moscas da família Sciaridae, conhecidas como fungus gnats (Moreira et al., 2014b).

Macrochelidae – Os ácaros do gênero *Macrocheles* são polípagos (Azevedo et al., 2015). Apesar de serem conhecidos principalmente por se alimentarem de ovos e do primeiro instar de larvas de moscas, podem também se alimentar de nematoides, colêmbolas e outros pequenos artrópodes. O desenvolvimento de espécies desse gênero é extremamente rápido; a fase imatura pode se completar em cerca de 1,4 [*Macrocheles robustulus* (Berlese)] a 4,6 [*Macrocheles penicilliger* (Berlese)] dias. Por sua vez, a fecundidade é alta e atinge de 53,3 (*Macrocheles penicilliger*) a 163,2 (*Macrocheles matrius* Hull) descendentes por fêmea (Cicolani, 1979). A taxa intrínseca de aumento populacional desses ácaros é superior à de outros ácaros Mesostigmata (Cicolani, 1979). A reprodução dos Macrochelidae pode ocorrer por partenogênese telítoca e arrenótoca (Azevedo et al., 2015). Sua dispersão comumente ocorre por meio de forésia, fenômeno comumente observado em besouros ou moscas que visitam os excrementos no solo onde estão esses ácaros.

Telítoca

Ovos não fertilizados dão origem a fêmeas.

Arrenótoca

Ovos não fertilizados dão origem a machos.

Forésia

Associação entre indivíduos de espécies diferentes, na qual um transporta outro sem se prejudicarem.

Ácaros predadores da ordem Trombidiformes, subordem Prostigmata

Os ácaros Prostigmata normalmente apresentam o corpo menos esclerotizado que os Mesostigmata, e as quelíceras são comumente em forma de estiletos (diferente das quelas primitivas observadas nos Mesostigmata).

Os ácaros da família Cheyletidae apresentam o corpo de coloração variável – pálido, amarelado ou avermelhado (Norton et al., 1993). O gnatossoma é relativamente grande, especialmente os palpos, o que confere aspecto peculiar a esses ácaros. Sua reprodução ocorre por partenogênese arrenótoca ou telítoca. No Brasil, foi estudada a biologia de um Cheyletidae plantícola do gênero *Cheletogenes* – *Cheletogenes ornatus* (Canestrini e Fanzago), comumente associado à cochonilha escama-farinha [*Pinnaspis aspidistrae* (Signoret)], que ataca o citrus. A fase imatura dessa espécie é relativamente longa e varia de 30 a 40 dias (a 28 °C). Esse predador se reproduz por partenogênese telítoca. No pico de reprodução, a oviposição diária é de 0,3 ovo por fêmea (Moraes et al., 1989). Outras espécies podem preda pragas de grãos armazenados, sejam ácaros ou pequenos insetos. A espécie *Cheyletus malaccensis* (Oudemans) apresenta ampla distribuição geográfica e se reproduz por partenogênese arrenótoca. A temperatura ótima para seu desenvolvimento é de cerca de 33 °C (Norton et al., 1993).

Os ácaros da família Stigmaeidae são de tamanho pequeno a médio (0,2 mm a 0,5 mm de comprimento) e apresentam cor intensa (amarela, laranja ou vermelha) e forma de diamante, oval ou alongada. Os estigmeídeos se reproduzem por partenogênese arrenótoca (Hoy, 2011). O ciclo de vida desses ácaros é geralmente mais longo que o dos predadores fitoseídeos, o que pode lhes conferir baixa taxa de aumento populacional e limitar sua resposta ao aumento populacional das presas. Entretanto, em climas tropicais, a capacidade de aumento populacional pode ser alta. A biologia de uma espécie que ocorre no Brasil, *Agistemus floridanus* González, predadora de ácaros fitófagos das famílias Tenuipalpidae e Eriophyidae, que atacam seringueira, foi estudada a 25 °C e 80% UR. O estágio de ovo foi de mais de 4 dias, e a duração total da fase imatura foi de 10,2 dias. Cada fêmea depositou em média 38,4 ovos (Ferla; Moraes, 2003).

MECANISMO DE ALIMENTAÇÃO, HÁBITOS ALIMENTARES E ESTILOS DE VIDA

De forma geral, o conhecimento sobre os mecanismos de alimentação e os hábitos alimentares ainda é escasso para a maioria das famílias de ácaros predadores.

Muitas vezes esse conhecimento se limita a observações pontuais de predação. As informações são mais detalhadas para os fitoseídeos.

O regime alimentar desses ácaros é bastante variado. Algumas espécies apresentam dieta restrita. Essas se alimentam exclusivamente de um grupo de ácaros fitófagos – os ácaros que tecem teia (Tetranychidae) – ou apresentam preferência por eles. Entretanto, a maioria das espécies é generalista, isto é, é capaz de se alimentar de outros ácaros (como os fitófagos das famílias Tetranychidae, Tenuipalpidae, Tarsonemidae e Eriophyidae), pequenos insetos (cochonilhas, tripes, moscas-brancas, psocópteros), além de alimentos de origem animal (substâncias açucaradas excretadas por insetos sugadores, como os homópteros, conhecidas como *honeydew*), exsudato de plantas, pólen e fungos.

Os fitoseídeos podem ser classificados com base em seus “estilos de vida”, para os quais levam-se em consideração os hábitos alimentares, os comportamentos de busca de presas e os substratos onde se encontram. A classificação mais recente foi apresentada em McMurtry et al. (2013) e inclui quatro tipos de estilo de vida (Tabela 2). Os tipos I e III apresentam subdivisões. Essa classificação é importante para a aplicação do controle biológico, permitindo a análise de perspectivas de uso desses agentes. Com base na identificação taxonômica do gênero do predador, poder-se-ia prever seu estilo de vida pela comparação de estilos de vida de espécies próximas que já tenham sido estudadas e devidamente classificadas (Ferragut et al., 2010).

Do ponto de vista aplicado, há vantagens e desvantagens no uso de ácaros fitoseídeos com um ou outro desses estilos de vida (Tabela 2). Se, por um lado, os especialistas usualmente têm uma ação de controle mais rápida sobre a praga; por outro, os generalistas têm maior habilidade de se manter no ambiente quando a população da praga é reduzida a níveis muito baixos. Além disso, os generalistas tendem a ser mais eficientes que os especialistas no controle de insetos ou de ácaros que pertençam a outros gêneros que não as espécies de *Tetranychus*. Portanto, cada agroecossistema e cada praga-alvo devem ser avaliados, visando decidir sobre o predador a ser utilizado, bem como sobre a estratégia de aplicação.

O mecanismo de predação de alguns ácaros fitoseídeos foi detalhadamente estudado. Observou-se que, para imobilizarem as presas, eles cortam sua cutícula com as quelíceras (em forma de pinça) e injetam enzimas proteolíticas em seu interior, a fim de liquefazerem seu conteúdo e absorverem-no gradualmente (Evans, 1992). Espécies que incluem pólen em sua alimentação, como *E. stipulatus* Athias-Henriot e *Amblyseius similoides* Buchellos & Pritchard, coletam os grãos de pólen individualmente com uma das quelíceras, rompem então a exina (camada externa) dos grãos

Tabela 2. Classificação do estilo de vida de diferentes tipos de ácaros predadores da família Phytoseiidae.

Tipo/subtipo	Estilo de vida
Tipo I	Especialistas (três subtipos, distintos pela alimentação)
Subtipo Ia	Especialistas em ácaros tetraniquídeos (Tetranychidae) do gênero <i>Tetranychus</i>
Subtipo Ib	Especialistas em ácaros tetraniquídeos (Tetranychidae) que produzem teia em forma de “ninhos”
Subtipo Ic	Especialistas em ácaros tideídeos (Tydeidae)
Tipo II	Seletivos de ácaros tetraniquídeos, espectro alimentar mais amplo que aqueles do Tipo I
Tipo III	Generalistas (cinco subtipos, distintos pelo micro-habitat e morfologia)
Subtipo IIIa	Vive em folhas pubescentes
Subtipo IIIb	Vive em folhas glabras
Subtipo IIIc	Vive em espaços confinados em plantas dicotiledôneas (exemplo, em domácias)
Subtipo IIId	Vive em espaços confinados em plantas monocotiledôneas
Subtipo IIIe	Vive no solo e na matéria orgânica do solo
Tipo IV	Generalistas que têm preferência por se alimentar de pólen, mas que podem ter como presas ácaros de várias famílias, pequenos insetos como tripes ou moscas-brancas, assim como nematoides. Outros alimentos alternativos podem ser esporos de fungos, exsudatos de plantas e secreções de insetos sugadores

Fonte: Adaptado de McMurtry et al. (2013).

com o movimento alternado das quelíceras e removem seu conteúdo (Flechtmann; McMurtry, 1992).

Cada grupo de ácaros predadores pode apresentar particularidades comportamentais para a captura de suas presas. Por exemplo, algumas espécies de *Bdellidae* imobilizam-nas, prendendo-as ao substrato (solo ou tecidos de plantas) com fios que se assemelham à seda, e as consomem em seguida (Hernandes et al., 2015). Alguns grupos de ácaros predadores se alimentam individualmente, enquanto outros podem preda em grupos, conforme observado para algumas espécies de *Macrochelidae*.

O consumo diário de presas varia de acordo com a espécie, com o estágio de desenvolvimento do predador e com o tipo de presa. Por exemplo, as fêmeas adultas de *Neoseiulus* Hughes consomem cerca de 12 ovos de *Tetranychus* por dia, enquanto as de *Phytoseiulus* podem consumir mais de 20 (McMurtry; Rodríguez, 1987). No caso de espécies generalistas, nem todos os alimentos têm o mesmo valor nutritivo; alguns se destacam bastante em relação à reprodução do predador. Os alimentos chamados de “suplementares” podem servir apenas para a sobrevivência dos predadores (não possibilitando sua reprodução). Consequentemente, suas populações poderão se manter, mas não terão incremento. No que diz respeito aos alimentos chamados de “alternativos”, os predadores podem sobreviver e se

reproduzir na ausência das presas (Overmeer, 1985). Por exemplo, estudos realizados com ácaros predadores generalistas que ocorrem na cultura do pinhão-manso em Tocantins – *Euseius concordis* (Chant) e *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma –, os quais foram alimentados com pólen de mamona, abóbora, milho e malvacea *Peltea riedelii*, mostraram os seguintes resultados: o pólen de mamona constitui alimento alternativo para ambas as espécies; o de abóbora não constitui alimento alternativo nem suplementar para nenhum dos predadores; e o pólen de milho e de *P. riedelii* constituem alimento suplementar (Marques et al., 2014). De qualquer forma, esses alimentos são importantes no controle biológico por permitirem a sobrevivência dos predadores em períodos de escassez de presas, por isso não é necessário realizar novas liberações inoculativas em campo (Ferragut et al., 2010).

Por não apresentarem órgãos sensoriais especializados para se orientarem visualmente, os ácaros predadores se orientam quimicamente. Alguns estudos na área de ecologia química de ácaros fitoseídeos foram conduzidos nas últimas décadas e mostraram que esses podem ser atraídos ou arrestados por voláteis do ambiente. Os fitoseídeos podem localizar suas presas (ex.: ácaros tetraniquídeos) a uma distância de 1,0 m (Sabelis; Dicke, 1985). Do ponto de vista prático, essas informações são importantes para a seleção de inimigos naturais para programas de controle biológico, entretanto ainda são escassas e não vêm sendo aplicadas para estabelecer estratégias de manejo no campo.

A predação de imaturos por adultos de sua própria espécie (canibalismo) ou de espécies diferentes (predação intraguilda) tem sido observada em fitoseídeos (Schausberger; Croft, 2000; Schausberger, 2003; Zannou et al., 2005). Além disso, predação intraguilda de adultos de diferentes espécies de fitoseídeos também foi recentemente observada por Famah-Sourassou et al. (2013) entre três espécies do gênero *Neoseiulus* – *Neoseiulus paspalivorus* (De Leon), *Neoseiulus baraki* Athias-Henriot e *Neoseiulus neobaraki* Zannou –, todas predadoras do ácaro da necrose das palmeiras (*Aceria guerreronis* Keifer). Embora ocorra tanto entre predadores especialistas quanto entre generalistas, observou-se que os especialistas são menos frequentes como canibais ou predadores intraguilda do que os generalistas (Schausberger; Croft, 2000). Esses comportamentos podem ter efeito negativo sobre o controle biológico, especialmente quando o predador intraguilda é menos eficaz no controle de determinada praga que a presa intraguilda. Walzer et al. (2001) desenvolveram um trabalho interessante que demonstra que a predação intraguilda pode levar à redução populacional ou mesmo ao completo deslocamento de um eficiente predador especialista. Nesse trabalho, os autores acompanharam a dinâmica populacional e a interação entre dois predadores – o especialista *P. persimilis* e o generalista *Neoseiulus californicus* (McGregor). Ambos são espécies predadoras do ácaro-rajado (*T. urticae*).

Constatou-se que a predação intraguildda foi mais importante do que a competição por alimentos entre os predadores, além de ser fortemente assimétrica entre eles e favorecer o generalista, chegando a resultar no completo deslocamento do predador especialista. Isso ocorre porque o generalista pode se alimentar de todas as fases de desenvolvimento dos predadores especialistas, enquanto o inverso não ocorre.

A utilização de ácaros predadores no controle de pragas pode ser comprometida pela falta de conhecimento sobre a alimentação deles quando estão no campo. Essa dificuldade se deve, em grande parte, ao reduzido tamanho desses predadores, bem como de suas presas. A dieta de algumas espécies é conhecida com base em experimentos de laboratório, no entanto, em campo, ela pode ser distinta e/ou mais diversificada. Apesar de essenciais para implantação de programas de controle biológico, as cadeias alimentares que envolvem predadores são praticamente desconhecidas *in situ*. Métodos moleculares de genômica ambiental (em inglês *metagenomics*, que significa o estudo da informação genética de um grupo de organismos dentro de um microbioma), mais especificamente de DNA *metabarcoding* (isto é, identificação de um conjunto de organismos de uma amostra), têm sido utilizados para o estudo de interações tróficas em comunidades de artrópodes em agroecossistemas, por meio da determinação da dieta de insetos predadores (Molloy et al., 2014). Estudos preliminares mostraram que essa metodologia também poderá ser utilizada para determinar a dieta de ácaros predadores em campo.

PROGRAMAS DE CONTROLE BIOLÓGICO

Ácaros predadores têm sido utilizados em programas de controle biológico no Brasil e em outros países. Sua utilização tem se intensificando nas últimas décadas (Carrillo et al., 2015). Exemplos de sucesso podem ser citados para as três estratégias de controle biológico: clássico (por importação), aumento e conservação. Os principais grupos de ácaros predadores utilizados no controle biológico são os plantícolas da família Phytoseiidae e os edáficos de outras famílias de Mesostigmata, conforme descritos abaixo.

Ácaros predadores plantícolas da família Phytoseiidae

Muitas espécies desta família são facilmente criadas em laboratório, o que facilita as avaliações sobre seu potencial como agentes de controle biológico, bem como sua criação em larga escala para uso prático em programas que envolvem liberações

periódicas. McMurtry et al. (2015) publicaram recentemente uma revisão sobre o uso de fitoseídeos para o controle de pragas.

Em vários países, inclusive no Brasil, os fitoseídeos têm sido mais utilizados em diversas culturas para o controle do ácaro-rajado. Os principais fitoseídeos utilizados para isso têm sido produzidos de forma massal e comercializados, com destaque para *P. persimilis*, *Phytoseiulus macropilis* (Banks), *N. californicus* e *Neoseiulus longispinosus* (Evans). *Phytoseiulus macropilis* e *N. californicus* são as únicas comercializadas no Brasil. Dada a grande especificidade das espécies de *Phytoseiulus*, sua multiplicação requer a produção de uma presa da família Tetranychidae, o que usualmente encarece o processo. Por sua vez, a produção de alguns outros fitoseídeos, menos específicos, pode ser feita com o uso de ácaros que atacam produtos armazenados (especialmente os Astigmatina), o que barateia significativamente o processo de produção, reduzindo o preço de venda dos predadores e a adoção de seu uso pelos agricultores.

Também de grande relevância tem sido o uso de espécies de *Amblyseius*, especialmente *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot, para o controle da mosca-branca [*Trialeurodes vaporariorum* (West) e *Bemisia tabaci* (Gennadius)], uma das principais pragas e vetores de fitovírus em muitos países. No Brasil, esse predador não está disponível, mas outras espécies do mesmo gênero têm sido estudadas, incluindo *Amblyseius tamatavensis* Blommers, que tem demonstrado grande potencial de uso (Cavalcante et al., 2016). *Neoseiulus barkeri* Hughes é outra espécie que tem sido comercializada para o controle do ácaro-branco [*Polyphagotarsonemus latus* (Banks)], praga polífaga que afeta seriamente grande número de culturas.

A utilização de fitoseídeos no controle biológico conservativo tem se baseado principalmente no uso de produtos químicos seletivos para o controle de determinadas pragas, isto é, produtos que afetam as pragas, mas não os predadores. Um dos sucessos da utilização dessa estratégia foi citado no início do presente capítulo. A conservação é atualmente muito utilizada em todo o mundo para o controle do ácaro-rajado. Tem se verificado que fitoseídeos do gênero *Neoseiulus* têm a capacidade de se tornar resistentes a vários produtos inseticidas e acaricidas. Essa é uma das razões da ampla utilização de *N. californicus* e *N. longispinosus* em diversas culturas. A resistência desses predadores a pesticidas tem permitido sua liberação em campo mesmo quando esses produtos precisam ser usados para o controle de outros organismos.

O caso mais bem-sucedido de controle biológico clássico com ácaros predadores ocorreu na África. Trata-se de um grande projeto para o controle do ácaro-verde da mandioca [*Mononychellus tanajoa* (Bondar)], que foi iniciado no final da década de 1970 e continuou muito ativo até o final da década de 1990, envolvendo a atuação de

pesquisadores da América do Sul, Inglaterra, Holanda e de países da África tropical. Esse projeto foi coordenado pelo International Institute of Tropical Agriculture (IITA), dele participando ativamente o Centro Internacional de Agricultura Tropical (Ciat), a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) e os programas nacionais de pesquisa de vários países africanos. Buscas por agentes de controle biológico foram realizadas em países da América Latina, culminando com o encontro de diversas espécies de ácaros predadores promissores no Brasil, três dos quais se estabeleceram na África – *Typhlodromalus aripo* De Leon, *Neoseiulus idaeus* Denmark & Muma e *Amblydromalus manihoti* (Moraes). A primeira dessas espécies se mostrou mais eficaz, resultando em redução significativa de populações de praga. Com a multiplicação de milhões desses ácaros nos laboratórios do IITA na República de Benin e sua liberação em países africanos (Yaninek; Hanna, 2003; Zannou et al., 2006), o ácaro-verde-da-mandioca foi controlado de forma eficaz.

No Brasil, outras tentativas têm sido feitas para a introdução de ácaros predadores para o controle biológico de uma praga quarentenária recentemente introduzida: o ácaro-vermelho-das-palmeiras (*R. indica*). Buscas de bons candidatos foram feitas na Ilha da Reunião e na Tailândia. Infelizmente os resultados obtidos até o momento não permitiram ainda repetir o mesmo sucesso alcançado com o ácaro-verde-da-mandioca. Nos trabalhos conduzidos naquelas regiões, observou-se que o predador predominante é uma espécie já presente no Brasil (*A. largoensis*), também comum em outras regiões do globo terrestre onde o coqueiro, principal hospedeiro dessa praga, é cultivado (Demite et al., 2017). A busca por outros predadores mais eficientes continua.

Predadores edáficos Mesostigmata

O emprego de ácaros predadores no controle de pragas (insetos e ácaros) e parasitos de solo, ou que vivam uma parte da vida no solo (ex.: tripes e fungus gnats), tem ocorrido em alguns países, inclusive no Brasil (Hoy, 2011; Castilho; Moraes, 2014; Castilho et al., 2015). Os fungus gnats atacam a parte subterrânea de diversas plantas em casa de vegetação, como ornamentais, plântulas de citros, eucalipto, entre outras, além de cogumelos (Castilho et al., 2009b; Moreira; Moraes, 2015). Os principais ácaros predadores utilizados são da ordem Mesostigmata, os quais são conhecidos pelo potencial de predação de muitos organismos fitófagos prejudiciais à agricultura.

O solo apresenta uma diversidade e abundância considerável de organismos, e os ácaros podem representar cerca de 50% da mesofauna (Plowman, 1979; Adis, 1988). Os Mesostigmata estão entre os ácaros mais encontrados nos solos, com destaque para o grupo Gamasina, geralmente um dos mais abundantes. Esse grupo é

constituído principalmente por predadores, alguns dos quais com comprovado potencial no controle biológico aplicado de pragas de solo ou que vivam uma parte da vida no solo (Gerson et al., 2003; Hoy, 2011; Carrillo et al., 2015). No entanto, apesar de a fauna edáfica de Gamasina ser abundante e muito diversa, ela ainda é muito pouco conhecida e utilizada de maneira aplicada no Brasil e no mundo. Apenas quatro espécies de ácaros edáficos são comercializadas para o controle de pragas no mundo todo: três Laelapidae (Castilho et al., 2009b; Moreira; Moraes, 2015) e uma Macrochelidae (Azevedo et al., 2015).

Os Ielapídeos *Gaeolaelaps aculeifer* (Canestrini), *Stratiolaelaps miles* (Berlese) e *Stratiolaelaps scimitus* (Womersley) são comercializados na Europa e nos Estados Unidos. No Brasil, *S. scimitus* é a única espécie de ácaro predador edáfico comercializada (Castilho; Moraes, 2014). Depois que esse ácaro foi encontrado em uma das coletas em Piracicaba, Freire et al. (2007) verificaram seu excelente potencial de controle de fungus gnats em laboratório. Freire e Moraes (2007) adaptaram um método de criação massal de *S. scimitus*, e Castilho et al. (2009b) observaram o controle altamente satisfatório de moscas Sciaridae com liberações controladas de *S. scimitus* em um cultivo comercial de cogumelos. A partir desses resultados promissores, uma empresa dedicada à produção de inimigos naturais passou a produzir e comercializar esse predador com grande sucesso no Brasil, principalmente em cultivos protegidos.

Outras espécies de Ielapídeos com potencial de uso no controle de outras pragas de importância agrícola foram identificadas no Brasil. Em coletas realizadas no estado de São Paulo, Moreira et al. (2014a) encontraram quatro novas espécies de Ielapídeos do gênero *Cosmolaelaps* Berlese. Uma dessas espécies (*Cosmolaelaps jaboticabalensis* Moreira, Klompen & Moraes) demonstrou potencial no controle do tripses *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thripidae). Cada indivíduo realizou a predação de cerca de 2,5 pré-pupas/pupas ao dia (Moreira et al., 2014b). Entre os Macrochelidae, destaca-se a espécie *M. robustulus*, que é comercializada na Europa e também é utilizada para o controle de fungus gnats e pupas de tripses, além de *Lyprauta* spp., moscas da família Keroplatidae, que também atacam órgãos vegetais subterrâneos (Azevedo et al., 2015).

No Brasil, nenhuma espécie de macroquelídeo vem sendo comercializada. Azevedo (2017b) encontrou uma nova espécie dessa família (*Macrocheles embersoni* Azevedo, Castilho & Berto) em amostras de estrume coletadas em estábulos de diferentes regiões do estado de São Paulo. Pesquisas demonstraram que essa espécie apresenta potencial para o controle da mosca-dos-estábulos [*Stomoxys calcitrans* (L.) (Muscidae)]. Esse parasito hematófago de rebanhos bovinos e outros animais domesticados vem causando seríssimos problemas em propriedades em que a vinhaça é aplicada sobre a palhada mantida no local após o corte da cana-de-açúcar e em

propriedades vizinhas (Dominghetti et al., 2015). *Macrocheles embersoni* preda em média cerca de 23 ovos e 35 larvas de moscas-dos-estábulo ao dia, com uma taxa média de oviposição de cerca de quatro ovos ao dia (Azevedo, 2017b). Essa mesma espécie de *Macrocheles* também preda ovos e larvas de mosca-doméstica (*Musca domestica* L.), além de ovos da mosca-dos-chifres [*Haematobia irritans* (L.)], ambas da família Muscidae (Azevedo, 2017b).

Estudos para prospecção de ácaros predadores edáficos vêm sendo intensificados no Brasil. O primeiro passo desses estudos é a identificação dos principais grupos/espécies encontrados em nosso meio e a determinação de espécies promissoras. Esses estudos têm sido conduzidos em áreas de vegetação natural e em agroecossistemas, com a detecção de espécies pela primeira vez no Brasil e também de novas espécies para a ciência (Mineiro; Moraes, 2001; Silva et al., 2004, 2007; Moreira et al., 2014a; Santos et al., 2015; Azevedo, 2017a, 2017b). Além de Laelapidae e Macrochelidae, algumas outras famílias de ácaros predadores edáficos Gamasina, que vêm sendo encontradas e apresentam potencial como agentes de controle biológico, são Ascidae *sensu lato* (Gerson et al., 2003; Britto et al., 2012; Moraes et al., 2015), Parasitidae (Gerson et al., 2003; Castilho et al., 2015) e famílias de Rhodacaroidea (Castilho et al., 2009a, 2015). Diversos são os relatos da predação de ovos e larvas de moscas, ácaros fitófagos, tripes, nematoides, ovos e larvas de *Diabrotica* spp. (Coleoptera: Chrysomelidae), por ácaros dessas famílias.

Ácaros predadores edáficos da família Rhodacaridae foram apontados como promissores inimigos naturais de pragas. Castilho et al. (2009a), após coletarem exemplares de *Protogamasellopsis zaheeri* Abo-Shnaf, Castilho & Moraes (citado como *Protogamasellopsis posnaniensis* Wisniewski & Hirschmann) (Rhodacaridae), verificaram em laboratório um bom potencial desse predador no controle de tripes e nematoides (Castilho et al., 2009a). Testes de semicampo sugerem o potencial desse predador em controlar o nematoide-das-lesões-radiculares [*Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) (Pratylenchidae)], importante praga na cultura da soja.

Pesquisas com diferentes espécies de ácaros predadores das famílias Ascidae, Blattisociidae, Laelapidae, Macrochelidae, Ologamasidae e Rhodacaridae vêm sendo conduzidas no intuito de verificar seu potencial no controle das seguintes pragas: ovos e larvas de ácaros do gênero *Rhizoglyphus* (Acaridae), que podem danificar bulbos, especialmente em cultivos de alho, cebola, plantas ornamentais bulbosas e cenoura; nematoides-das-galhas (*Meloidogyne* spp.), pragas de muitas culturas como tomate e soja; pupas de mosca-minadora (*Liriomyza* spp.), praga em cultivos de melão; ovos e larvas de *Diabrotica* spp. (Coleoptera: Chrysomelidae), praga em cultivos de milho e batata; entre outras que ocorrem no solo.

DESAFIOS E PERSPECTIVAS

A utilização de ácaros predadores como agentes de controle de pragas, sejam esses ácaros fitófagos ou pequenos insetos, vem se intensificando em todo o mundo. Esses predadores têm sido utilizados com sucesso nas distintas estratégias de controle biológico – por importação (clássico), aumento e conservação. Em muitos agroecossistemas, esses inimigos naturais já constituem um componente-chave no manejo integrado de pragas. A intensificação das pesquisas poderá levar à descoberta de maior número de espécies promissoras que poderão ser até mais eficientes que as que já estão em uso (McMurtry et al., 2013). Portanto, é importante continuar investindo em estudos de prospecção de novos ácaros predadores, na avaliação de sua eficiência e em métodos para sua produção massal e aplicação. O Brasil, por sua megadiversidade, é um dos países mais promissores para a busca de ácaros predadores plantícolas e edáficos que possam ser eficientes agentes de controle biológico.

Em todo o mundo, maior uso de ácaros predadores da família Phytoseiidae tem sido feito para o controle do ácaro-rajado e da mosca-branca. Apesar do elevado número de espécies conhecidas nessa família, o número de espécies efetivamente utilizadas para o controle de pragas é pequeno (aproximadamente dez espécies). Esse número deverá ser ampliado nos próximos anos como resultado de pesquisas que estão em andamento em todo o mundo.

Apesar de ser uma linha de pesquisa recente, a utilização de ácaros predadores edáficos para o controle de pragas vem sendo considerada extremamente promissora em todo o mundo. Apenas no Brasil, pesquisas já geraram informações suficientes para uso prático e comercialização de pelo menos uma espécie de ácaro predador edáfico e para a detecção de outras espécies com grandes chances de uso prático. A continuação desses estudos é necessária para que a agropecuária tenha mais opções de controle de um número cada vez maior de pragas e parasitos do solo.

Além da utilização dos ácaros predadores no controle biológico pelo método aumentativo, será extremamente importante, pensando em um contexto agroecológico, desenvolver estudos para a avaliação dos serviços ecossistêmicos prestados por esse grupo de organismos, o que possibilitará planejar e manejar os agroecossistemas de modo que esses serviços sejam otimizados. Para isso, estudos detalhados das comunidades e, sobretudo, das cadeias alimentares que envolvem ácaros predadores será fundamental.

No Brasil, tem sido de especial interesse a instalação de empresas com a finalidade de produzir ácaros predadores plantícolas ou edáficos para uso pelos agricul-

tores. A ação dessas empresas na produção, pesquisa e implementação de uso é de extrema relevância, pois complementam as ações de pesquisa já tradicionalmente realizadas por distintas instituições nacionais.

REFERÊNCIAS

- ADIS, J. On the abundance and diversity of terrestrial arthropods in Central Amazonian dryland forests. **Journal of Tropical Ecology**, v. 4, n. 1, p. 19-24, 1988. DOI: 10.17/S0266467400002455.
- ATHANASSIOU, C. G.; PALLYVOS, N. E. The Cheyletoidea (Prostigmata), with special reference to the potential of *Cheyletus malaccensis* Oudemans as biological control agent of post-harvest pests. In: CARRILLO, D.; MORAES, G. J.; PEÑA, J. E. (Ed.). **Prospects for biological control of plant feeding mites and other harmful organisms**. New York: Springer, 2015. p. 241-250.
- AZEVEDO, E. B. **Diversidade de ácaros edáficos, com ênfase nos Mesostigmata, em cultivos agrícolas e na vegetação natural do bioma Cerrado no sul do estado do Tocantins**. 2017a. 57 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Entomologia Agrícola) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- AZEVEDO, L. H.; EMBERSON, R. M.; ESTECA, F. C. N.; MORAES, G. J. Macrochelid mites (Mesostigmata: Macrochelidae) as biological control agents. In: CARRILLO, D.; MORAES, G. J.; PEÑA, J. E. (Ed.). **Prospects for biological control of plant feeding mites and other harmful organisms**. New York: Springer, 2015. p. 103-132.
- AZEVEDO, L. H. **Taxonomic studies of Macrochelidae mites (Acari: Mesostigmata) and their potential use to control *Stomoxys calcitrans* and *Musca domestica* (Diptera: Muscidae)**. 2017b. 276 f. Tese (Doutorado em Ciências – Entomologia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- BEAULIEU, F.; DOWLING, A. P. G.; KLOMPEN, H.; MORAES, G. J.; WALTER, D. Superorder Parasitiformes Reuter, 1909. In: ZHANG, Z-Q. (Ed.). **Animal biodiversity: an outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness** (Addenda 2013). Auckland, 2011. p. 123-128.
- BERNDT, O.; MEYHÖFER, R.; POEHLING, H. M. Propensity towards cannibalism among *Hypoaspis aculeifer* and *Hypoaspis miles*, two soil-dwelling predatory mite species. **Experimental and Applied Acarology**, v. 31, p. 1-14, Sept. 2003.
- BRITTO, E. P. J.; GAGO, E.; MORAES, G. J. How promising is *Lasioseius floridensis* as a control agent of *Polyphagotarsonemus latus*? **Experimental and Applied Acarology**, v. 56, n. 3, p. 221-231, 2012.
- CARRILLO, D.; MORAES, G. J.; PEÑA, J. **Prospects for biological control of plant feeding mites and other harmful organisms**. New York: Springer, 2015. 328 p.
- CASTILHO, R. C.; MORAES, G. J. Controle biológico de pragas com ácaros predadores: uma realidade no Brasil. In: BUSOLI, A. C.; SOUZA, L. A.; ALENCAR, J. R. C. C.; FRAGA, D. F.; GRIGOLLI, J. F. J. (Ed.). **Tópicos em Entomologia Agrícola – VII**. Jaboticabal, SP: Multipress, 2014. p. 69-77.
- CASTILHO, R. C.; MORAES, G. J.; SILVA, E. S.; FREIRE, R. A. P.; EIRA, F. C. The predatory mite *Stratiolaelaps scimitus* as a control agent of the fungus gnat *Bradysia matogrossensis* in commercial production of the mushroom *Agaricus bisporus*. **International Journal of Pest Management**, v. 53, n. 3, p. 181-185, Jun. 2009b. DOI: 10.1080/09670870902725783.

- CASTILHO, R. C.; MORAES, G. J.; SILVA, E. S.; SILVA, L. O. Predation potential and biology of *Protogamasellopsis zaheri* Wisniewski & Hirschmann (Acari: Rhodacaridae). **Biological Control**, v. 48, n. 2, p. 164-167, Feb. 2009a. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2008.10.004.
- CASTILHO, R. C.; VENÂNCIO, R.; NARITA, J. P. Z. Mesostigmata as biological control agents, with emphasis on Rhodacaroidea and Parasitoidea. In: CARRILLO, D.; MORAES, G. J.; PEÑA, J. E. (Ed.). **Prospects for biological control of plant feeding mites and other harmful organisms**. New York: Springer, 2015. p. 1-31.
- CAVALCANTE, A. C. C.; MANDRO, M. E. A.; PAES, E. R.; MORAES, G. J. *Amblyseius tamatavensis* Blommers (Acari: Phytoseiidae) a candidate for biological control of *Bemisia tabaci* (Gennadius) biotype B (Hemiptera: Aleyrodidae) in Brazil. **International Journal of Acarology**, v. 43, n. 1, p. 10-15, 2016. DOI: 10.1080/01647954.2016.1225816.
- CHANT, D. A. Notes on mites of the genus *Typhlodromus* Scheuten, 1857 (Acarina: Laelaptidae), with descriptions of the males of some species and the female of a new species. **Canadian Entomologist**, v. 87, n. 11, p. 496-503, Nov. 1955. DOI: 10.4039/Ent87496-11.
- CHANT, D. A.; MCMURTRY, J. A. **Illustrated keys and diagnosis for the genera and subgenera of the Phytoseiidae of the world (Acari: Mesostigmata)**. West Bloomfield: Indira Publishing House, 2007. 219 p.
- CICOLANI, B. The intrinsic rate of natural increase in dung macrochelid mites, predators of *Musca domestica* eggs. **Bollettino di Zoologia**, v. 46, p. 171-178, 1979. DOI: 10.1080/11250007909440296.
- DEMITE, P. R.; MCMURTRY, J. A.; MORAES, G. J. Phytoseiidae database: a website for taxonomic and distribution information on phytoseiid mites (Acari). **Zootaxa**, v. 3795, p. 571-577, 2014. DOI: 10.11646/zootaxa.3795.5.6.
- DEMITE, P. R.; MORAES, G. J.; MCMURTRY, J. A.; DENMARK, H. A.; CASTILHO, R. C. **Phytoseiidae Database**. Disponível em: <www.lea.esalq.usp.br/phytoseiidae>. Acesso em: 18 set. 2017.
- DICKE, M.; SABELIS, M.; TAKABAYASHI, J.; BRUIN, J.; POSTHUMUS, M. A. Plant strategies of manipulating predator-prey interactions through allelochemicals: prospects for application in pest control. **Journal of Chemical Ecology**, v. 16, n. 11, p. 3091-3118, Nov. 1990b.
- DICKE, M.; VAN BEEK, T. A.; POSTHUMUS, M. A.; BEM DOM, N.; VAN BOKHOVEN, H.; GROOT, A. E. Isolation and identification of volatile kairomone that affects acarine predator-prey interactions. Involvement of host plant in its production. **Journal of Chemical Ecology**, v. 16, n. 2, p. 381-396, Feb. 1990a. DOI: 10.1007/BF01021772.
- DOMINGHETTI, T. F. S.; BARROS, A. T. M.; SOARES, C. O.; CANÇADO, P. H. D. *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) outbreaks: current situation and future Outlook with emphasis on Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, n. 4, p. 387-395, Oct./Dec. 2015. DOI: 10.1590/S1984 29612015079.
- DOMINGOS, C. A.; OLIVEIRA, L. O.; MORAIS, E. G. F.; NAVIA, D.; MORAES, G. J.; GONDIM JÚNIOR, M. G. C. Comparison of two populations of the pantropical predator *Amblyseius largoensis* (Acari: Phytoseiidae) for biological control of *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae). **Experimental and Applied Acarology**, v. 60, p. 83-93, May 2013.
- EVANS, G. O. **Principles of acarology**. Cambridge: CAB International, 1992. 563 p.
- FAMAH-SOURASSOU, N.; HANNA, R.; NEGLOH, K.; BREEUWER, J. A. J.; SABELIS, M. W. Females as intraguild predators of males in cross-pairing experiments with phytoseiid mites. **Experimental and Applied Acarology**, v. 61, n. 2, p. 173-182, Oct. 2013.
- FAMAH-SOURASSOU, N.; HANNA, R.; ZANNOU, I.; BREEUWER, J. A.; MORAES, G. J.; SABELIS, M. W. Morphological, molecular and cross-breeding analysis of geographic populations of coconut-mite

associated predatory mites identified as *Neoseiulus baraki*: evidence for cryptic species?

Experimental and Applied Acarology, v. 57, p. 15-36, May 2012.

FAN, Q-H; FLECHTMANN, C. H. W. Stigmaeidae. In: CARRILLO, D.; MORAES, G. J.; PEÑA, J. E. (Ed.).

Prospects for biological control of plant feeding mites and other harmful organisms. New York: Springer, 2015. p. 185-206.

FAN, Q-H; FLECHTMANN, C. H. W.; MORAES, G. J. Annotated catalogue of Stigmaeidae (Acari: Prostigmata), with a pictorial keys to genera. **Zootaxa**, v. 4176, n. 1, p. 2016. DOI: 10.11646/zootaxa.4176.1.

FERLA, N. J.; MORAES, G. J. Biologia de *Agistemus floridanus* Gonzalez (Acari, Stigmaeidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 20, n. 2, p. 261-264, June 2003.

FERRAGUT, F.; PÉREZ-MORENO, I.; IRIOLA-CALVO, V. M.; ESCUDERO, A. **Ácaros depredadores en las plantas cultivadas**. Familia Phytoseiidae. Madrid: Ediciones Agrotecnicas, 2010. 202 p.

FLECHTMANN, C. H. W.; MCMURTRY, J. A. Studies on how phytoseiid mites feed on spider mites and pollen. **International Journal of Acarology**, v. 18, p. 157-162, 1992.

DOI: 10.1080/01647959208683946.

FREIRE, R. A. P.; MORAES, G. J. Mass production of the predatory mite *Stratiolaelaps scimitus* (Womersley) (Acari: Laelapidae). **Systematic and Applied Acarology**, v. 12, p. 117-119, Sept. 2007.

FREIRE, R. A. P.; MORAES, G. J.; SILVA, E. S.; VAZ, A. C. F.; CASTILHO, R. C. Biological control of *Bradysia matogrossensis* (Diptera: Sciaridae) in mushroom cultivation with predatory mites. **Experimental and Applied Acarology**, v. 42, n. 2, p. 87-93, June 2007.

FURTADO, I. P.; MORAES, G. J.; KREITER, S.; TIXIER, M. S.; KNAPP, M. Potential of a brazilian population of the predatory mite *Phytoseiulus longipes* as a biological control agent of *Tetranychus evansi* (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae). **Biological Control**, v. 42, n. 2, p. 139-147, 2007. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2007.04.016.

GERSON, U.; SMILEY R. L.; OCHOA, R. **Mites (Acari) for pest control**. Oxford: Blackwell Publishing, 2003. 539 p.

HERNANDES, F. A.; CASTRO, T. M. M. G. de; VENANCIO, R. Prostigmata (Acari: Trombidiformes) as biological control agents. In: CARRILLO, D.; MORAES, G. J.; PEÑA, J. **Prospects for biological control of plant feeding mites and other harmful organisms**. New York: Springer, 2015. p. 151-184.

HERNANDES, F. A.; CASTRO, T. M. M. G.; VENANCIO, R. Prostigmata (Acari: Trombidiformes) as biological control agents. In: CARRILLO, D.; MORAES, G. J.; PEÑA, J. E. (Ed.). **Prospects for biological control of plant feeding mites and other harmful organisms**. New York: Springer, 2015. p. 151-184.

HERNANDES, F. A.; SKVARLA, M. J.; FISHER, J. R.; DOWLING, A. P. G.; OCHOA, R.; UECKERMANN, E. A.; BAUCHAN, G. R. Catalogue of snout mites (Acariformes: Bdellidae) of the world. **Zootaxa**, v. 4152, 2016.

HOY, M. A. **Agricultural acarology**: introduction to integrated mite management. Boca Ratón: CRC Press, 2011. 430 p.

HUGHES, A. M. **The mites of stored food and houses**. 2nd ed. London: Majesty's Stationery Office, 1976. 400 p. (Technical Bulletin of the Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, 9).

IGNATOWICZ, S. Observations on the biology and development of *Hypoaspis aculeifer* Canestrini, 1885 (Acarina: Gamsides). **Zoologica Poloniae**, v. 24, p. 41-59, 1974.

KRANTZ, G. W.; WALTER, D. E. **A manual of acarology**. Lubbock: Texas Tech University Press, 2009. 807 p.

LINDQUIST, E. E.; KRANTZ, G. W.; WALTER, D. E. Classification. In: KRANTZ, G. W.; WALTER, D. E. **A manual of acarology**. Lubbock: Texas Tech University Press, 2009a. 807 p.

- LINDQUIST, E. E.; KRANTZ, G. W.; WALTER, D. E. Order Mesostigmata. In: KRANTZ, G. W.; WALTER, D. E. **A manual of acarology**. Lubbock: Texas Tech University Press, 2009b. p. 124-232.
- MARQUES, R. V.; SARMENTO, R. A.; FERREIRA, V. A.; VENZON, M.; LEMOS, F.; PEDRO-NETO, M.; ERASMO, E. A. L.; PALLINI, A. Alternative food sources to predatory mites (Acari) in a *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae) crop. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 40, n. 1, p. 74-79, Jan./June 2014.
- MATIOLI, A. L.; LEITE, G. L. D.; PALLINI-FILHO, A.; PICANÇO, M. Distribuição espacial e temporal e efeitos de diferentes tratamentos culturais em ácaros associados a laranja pêra-rio. **Agro-Ciência**, v. 14, p. 395-405, 1998.
- MATIOLI, A. L.; TAVARES, M. G.; PALLINI, A. *Agistemus pallini* n. sp. (Acari: Stigmaeidae) from Citrus orchards in Brazil. **International Journal of Acarology**, v. 33, n. 3, p. 245-251, Sept. 2007. DOI:10.1080/01647950708684529.
- MATIOLI, A. L.; UECKERMANN, E. A.; OLIVEIRA, C. A. L. Some Stigmaeidae and Eupalopsellid mites from Citrus orchards in São Paulo State, Brazil (Acari: Stigmaeidae: Eupalopsellidae). **International Journal of Acarology**, v. 28, p. 99-120, 2002.
- MCMURTRY, J. A. Concepts of classification of the Phytoseiidae: relevance to biological control. In: SABELIS, M. W.; BRUIN, J. (Ed.). **Trends in acarology**: proceeding of 12th international congress. New York: Springer, 2010. p. 393-397.
- MCMURTRY, J. A.; FAMAHA SOURASSOU, N.; DEMITE, P. D. The Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata) as biological control agents. In: CARRILLO, D.; MORAES, G. J.; PEÑA, J. E. (Ed.). **Prospects for biological control of plant feeding mites and other harmful organisms**. New York: Springer, 2015. p. 133-149.
- MCMURTRY, J. A.; MORAES, G. J.; FAMAHA SOURASSOU, N. Revision of lifestyles of phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae) and implications for biological control strategies. **Systematic and Applied Acarology**, v. 18, n. 4, p. 297-320, Dec. 2013.
- MCMURTRY, J. A.; RODRIGUEZ, J. G. Nutritional ecology of phytoseiid mites. In: SLANSKY, F.; RODRIGUEZ, J. G. **Nutritional ecology of insects, mites, spiders and related invertebrates**. New York: John Wiley & Sons, 1987. p. 609-644.
- MINEIRO, J. L. C.; MORAES, G. J. Gamasida (Arachnida: Acari) edáficos de Piracicaba, Estado de São Paulo. **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 3, p. 379-385, Sept. 2001.
- MOLLOT, G.; DUYCK, P. F.; LESCOURET, F.; MARTIN, J. F.; PIRY, S.; CANARD, E.; TIXIER, P. Cover cropping alters the diet of arthropods in a banana plantation: a metabarcoding approach. **PloS One**, v. 9, p. e93740, Apr. 2014. DOI: 10.1371/journal.pone.0093740.
- MORAES, G. J. Controle biológico de ácaros fitófagos. **Informe Agropecuário**, v. 15, n. 167, p. 55-62, 1991.
- MORAES, G. J. Importance of taxonomy in biological control. **Insect Science Applied**, v. 8, p. 841-844, 1987.
- MORAES, G. J.; FLECHTMANN, C. H. W. **Manual de acarologia, acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos, 2008. 308 p.
- MORAES, G. J.; NETO, R. S.; PINTO, H. C. S. Morphology, biology and pesticide tolerance of *Cheletogenes ornatus* (Acari: Cheyletidae). **Entomophaga**, v. 34, n. 4, p. 477-484, 1989.
- MORAES, G. J.; VENÂNCIO, R.; SANTOS, V. L. V.; PASCHOAL, A. D. Potential of Ascidae, Blattisociidae and Melicharidae (Acari: Mesostigmata) as biological control agents of pest organisms. In: CARRILLO, D.; MORAES, G. J.; PEÑA, J. E. (Ed.). **Prospects for biological control of plant feeding mites and other harmful organisms**. New York: Springer, 2015. p. 33-75.
- MOREIRA, G. F.; KLOMPEN, H.; MORAES, G. J. Redefinition of *Cosmolaelaps* Berlese (Acari: Laelapidae) and description of five new species from Brazil. **Zootaxa**, v. 3764, n. 3, p. 317-346, 2014a.

- MOREIRA, G. F.; MARAIS, M. R.; BUSOLI, A. C.; MORAES, G. J. Life cycle of *Cosmolaelaps jaboticabalensis* (Acari: mesostigmata: Laelapidae) on *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) and two factitious food sources. **Experimental and Applied Acarology**, v. 65, n. 2, p. 219-226, 2014b.
- MOREIRA, G. F.; MORAES, G. J. The potential of free-living laelapid mites (Mesostigmata: Laelapidae) as biological control agents. In: CARRILLO, D.; MORAES, G. J.; PEÑA, J. E. (Ed.). **Prospects for biological control of plant feeding mites and other harmful organisms**. New York: Springer, 2015. p. 77-102.
- NAVIA, D.; DOMINGOS, C. A.; MENDONÇA, R. S.; FERRAGUT, F.; RODRIGUES, M. A. N.; MORAIS, E. G. F.; TIXIER, M. S.; GONDIM JÚNIOR, M. G. C. Reproductive compatibility and genetic and morphometric variability among populations of the predatory mite, *Amblyseius largoensis* (Acari: Phytoseiidae), from Indian Ocean Islands and the Americas. **Biological Control**, v. 72, p. 17-29, May 2014. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2014.01.011.
- NORTON, R. A.; KETHLEY, J. B.; JOHNSTON, D. E.; O'CONNOR, B. M. Phylogenetic perspectives on genetic systems and reproductive modes of mites. In: WRENSCH, D. L.; EBBERT, M. A. (Ed.). **Evolution and diversity of sex ratio of insects and mites**. New York: Chapman & Hall Publications, 1993. p. 8-99.
- OLIVEIRA, D. C.; MORAES, G. J. Ácaros, uma importante ferramenta para o controle biológico. **Ciência e Ambiente**, v. 43. p. 37-54, 2011.
- OVERMEER, W. Alternative prey and other food resources. In: HELLE, W.; SABELIS, M. **Spider mites: their biology, natural enemies and control**. Amsterdam: Elsevier, 1985. p. 131-137.
- PERRING, T. M.; LACKEY, L. J. Temperature and humidity effects on mortality and pre- adult development of two *Phytoseiulus persimilis* strains (Acari: Phytoseiidae). **International Journal of Acarology**, v. 15, p. 47-52, 1989. DOI: 10.1080/01647958908683821.
- PLOWMAN, K. P. Litter and soil fauna of two Australian subtropical forest. **Journal of Animal Ecology**, v. 4, n. 1, p. 47-104, Mar. 1979. DOI: 10.1111/j.1442-9993.1979.tb01200.x.
- SABELIS, M. W. Development. In: HELLE, W.; SABELIS, M. W. (Ed.). **Spider mites: their biology, natural enemies and control**. The Netherlands: Elsevier Science Publishers, 1985. p. 43-52. (World Crop Pests 1B).
- SABELIS, M. W.; DICKE, M. Long-range dispersal and searching behaviour. In: HELLE, W.; SABELIS, M. W. (Ed.). **Spider mites: their biology, natural enemies and control**. The Netherlands: Elsevier Science Publishers, 1985. p. 141-157. (World Crop Pests 1B).
- SANTOS, J. C.; CASTILHO, R. C.; SILVA, E. S.; MORAES, G. J. Two new species of *Ryckellus* (Acari: Mesostigmata: Ologamasidae) from Brazil and a key to the world species of the genus. **Zootaxa**, v. 3926, p. 111-121, 2015. DOI: 10.11646/zootaxa.3926.1.5.
- SANTOS, V. V.; TIXIER, M. S. Which molecular markers for assessing which taxonomic level? The case study of the family Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata). **Cladistics**, May, 20106. DOI: 10.1111/cla.12166.
- SCHAUSBERGER, P. Cannibalism among phytoseiid mites: a review. **Experimental and Applied Acarology**, v. 29, p. 173-191, 2003.
- SCHAUSBERGER, P.; CROFT, B. Cannibalism and intraguild predation among phytoseiid mites: are aggressiveness and prey preference related to diet specialization? **Experimental and Applied Acarology**, v. 24, n. 9, p. 709-725, 2000.
- SILVA, E. S.; MORAES, G. J.; KRANTZ, G. W. A new species of *Ologamasus* (Acari: Ologamasidae) from Brazil. **Zootaxa**, v. 1462, p. 61-67, 2007.
- SILVA, E. S.; MORAES, G. J.; KRANTZ, G. W. Diversity of edaphic rhodacaroid mites (Acari: Mesostigmata: Rhodacaroida) in natural ecosystems in the State of São Paulo, Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 33, n. 5, p. 547-555, Sept./Oct. 2004. DOC: 10.1590/S1519-566X2004000500002.

SKVARLA, M. J.; FISHER, J. R.; DOWLING, A. P. G. A review of Cunaxidae (Acariformes, Trombidiformes): histories and diagnosis of subfamilies and genera, keys to world species, and some new locality records. **ZooKeys**, v. 418, p. 1-103, 2014. DOI: 10.3897/zookeys.418.7629.

TANIGOSHI, L. K. Advances in knowledge of the biology of the Phytoseiidae. In: HOY, M. A. (Ed.). **Recent advances in knowledge of the Phytoseiidae**. Berkeley: Division of Agriculture and Natural Resources, University of California. 1982. p. 1-22. (ANR Publication, 3284).

TIXIER, M. S.; FERRERO, M.; OKASSA, M.; GUICHOU, S.; KREITER, S. On the specific identity of specimens of *Phytoseiulus longipes* Evans (Mesostigmata: Phytoseiidae) showing different feeding behaviours: morphological and molecular analyses. **Bulletin of Entomological Research**, v. 100, n. 5, p. 569-579, Oct. 2010. DOI: 10.1017/S000748530999061.

TIXIER, M. S.; KREITER, S.; RAGUSA, S.; CHEVAL, B. The status of two cryptic species: *Typhlodromus exilaratus* Ragusa and *Typhlodromus phialatus* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae): consequences for taxonomy. **Zoologica Scripta**, v. 37, p. 115-122, Mar. 2006. DOI: 10.1111/j.1463-6409.2006.00222.x.

TIXIER, M. S.; TSOLAKIS, H.; RAGUSA, S.; POINSO, A.; FERRERO, M.; OKASSA, M.; KREITER, S. Integrative taxonomy demonstrates the unexpected synonymy between two predatory mite species: *Cydnodromus idaeus* and *C. picanus* (Acari : Phytoseiidae). **Invertebrate Systematics**, v. 25, p. 273-281, 2011. DOI: 10.1071/IS111025.

WALTER, D. E.; PROCTOR, H. C. **Mites: ecology, evolution & behaviour**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2013. 486 p.

WALZER, A., BLUMEL, S., SCHAUSBERGER, P. Population dynamics of interacting predatory mites, *Phytoseiulus persimilis* and *Neoseiulus californicus*, held on detached bean leaves. **Experimental and Applied Acarology**, v. 25, n. 9, p. 731-43, Sept. 2001.

YANINEK, J. S.; HANNA, R. Green cassava mite in Africa – a unique example of successful biological control of a mite pest on a continental scale. In: NEUENSCHWANDER, P.; BORGEMEISTER, C.; LANGEWALD, J. (Ed.). **Biological control in IPM systems in Africa**. Wallingford: Cabi Publishing, 2003. p. 61-75.

ZANNOU, I. D.; MORAES, G. J.; HANNA, R. Controle biológico do ácaro verde da mandioca, *Mononychellus tanajoa*. In: PINTO, A. de S.; NAVA, D. E.; ROSSI, M. M.; MALERBO-SOUZA, D. T. (Ed.). **Controle Biológico de Pragas na Prática**. Piracicaba: CP2, 2006. p. 97-103.

ZANNOU, I. D.; HANNA, R.; MORAES, J. G.; KREITER, S. Cannibalism and interspecific predation in a phytoseiid predator guild from cassava fields in Africa: evidence from the laboratory. **Experimental and Applied Acarology**, v. 37, n. 1-2, p. 27-42, Oct. 2005.

CAPÍTULO 6

Controle de artrópodes-praga com bactérias entomopatogênicas

Rose Gomes Monnerat
Paulo Roberto Martins Queiroz
Érica Soares Martins
Lilian Botelho Praça
Carlos Marcelo Silveira Soares

As bactérias entomopatogênicas são divididas em dois grupos: esporulantes e não esporulantes. Entre as esporulantes, existem as aeróbicas, como as pertencentes ao gênero *Bacillus* e correlatos, e as anaeróbicas, que pertencem ao gênero *Clostridium*. As bactérias do gênero *Bacillus* e correlatos são as mais utilizadas em controle biológico. Nesses gêneros, estão incluídas as espécies *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis* (Bt), *Paenibacillus popilliae*, *Paenibacillus lentimorbus*, *Paenibacillus larvae*, *Paenibacillus alvei*, *Brevibacillus laterosporus* e *Lysinibacillus sphaericus*. As bactérias não esporulantes incluem os gêneros *Serratia*, *Pseudomonas*, *Streptococcus* e *Xenorhabdus*.

As bactérias do gênero *Bacillus* e correlatos têm ocorrência cosmopolita e são encontradas em todas as partes do mundo, em vários substratos como solo, superfície de plantas, rizosfera, grãos armazenados, insetos mortos, entre outros. São bactérias Gram-positivas e aeróbicas e podem facultativamente crescer em anaerobiose. *P. popilliae* e *P. lentimorbus* causam, respectivamente, a doença leitosa dos tipos A e B em larvas de coleópteros. São bastante eficazes, mas difíceis de ser produzidas em meio artificial. *P. larvae* e *P. alvei* causam respectivamente a doença americana e a doença europeia das abelhas. Diversas estirpes de *Bacillus laterosporus* causam mortalidade em larvas de insetos da ordem Diptera, como *Aedes aegypti* (Linnaeus), *Anopheles stephensi*

Liston e *Culex pipiens* Linnaeus (Orlova et al., 1998), bem como da ordem Coleoptera (*Anthonomus grandis* Boheman) e da ordem Lepidoptera (*Anticarsia gemmatalis* Hübner) (Oliveira et al., 2004). *Lysinibacillus sphaericus* é tóxico para larvas de insetos da ordem Diptera, principalmente as dos gêneros *Culex* e *Anopheles*, impedindo assim a transmissão de doenças como a malária e as filarioses (Monnerat et al., 2004). A bactéria mais utilizada em controle biológico de pragas agrícolas e insetos de importância médico-veterinária em todo o mundo é *B. thuringiensis* (Berliner), que é tóxica para diferentes insetos das ordens Coleoptera, Diptera, Hymenoptera, Lepidoptera, bem como a nematoides (Bravo et al., 2005).

DIVERSIDADE DE BACTÉRIAS ENTOMOPATOGÊNICAS

Paenibacillus popilliae e *P. lentimorbus*

Paenibacillus popilliae e *P. lentimorbus* são, respectivamente, os agentes causadores da doença leitosa dos tipos A e B. Essas patologias foram relatadas tanto no besouro-japonês (*Popillia japonica* Newman) quanto em outros escarabeídeos (Pettersson et al., 1999).

As duas espécies podem ser diferenciadas fenotipicamente pelo corpo paraesporal, presente em *P. popilliae* e ausente em *P. lentimorbus*, e por *P. popilliae* ser resistente ao antibiótico vancomicina. Com relação ao genótipo, podem ser diferenciados por marcadores moleculares em regiões ITS (espaçadores transcritos intergênicos) (Dingman, 2009).

Toxinas presentes no corpo paraesporal parecem estar associadas à facilidade de rompimento da barreira epitelial do intestino e à invasão da hemocele, onde a multiplicação celular continua. Uma proteína cristal paraesporal de 80 kDa foi detectada em extratos proteicos de esporângios de *B. popilliae* isolados de larvas do besouro *Melolontha melolontha* (Linnaeus). A análise de aminoácidos revelou homologia significativa com as endotoxinas Cry2Aa de *B. thuringiensis*. O gene *cryBP1* (*cry18Aa1*) que codifica a proteína cristal do paraesporo foi encontrado no cromossomo bacteriano. A proteína CryBP1 (Cry18Aa1) de 706 aminoácidos tem uma massa molecular prevista de 79 kDa e mostra cerca de 40% de identidade de sequência com as proteínas Cry2 de *B. thuringiensis* (Zhang et al., 1997).

Em *P. lentimorbus*, foram identificadas duas proteínas cristalinas paraesporais (Cry43Aa1 e Cry43Ba1) e uma proteína Cry parcial (Cry43-like). Bioensaio realizado

com a toxina Cry43Aa1 resultou na redução da ingestão de alimento e na mortalidade de 90% das larvas de primeiro estágio de *Anomala cuprea* (Yokoyama et al., 2004).

Apesar das diferenças fenotípicas, essas duas espécies apresentam modo de ação similar, ou seja, depois que os esporos são ingeridos pelo hospedeiro, eles germinam no intestino médio, e o efeito patogênico posterior parece estar relacionado à septicemia causada pelas células vegetativas. O processo de infecção começa quando as larvas ingerem esporos dessas bactérias durante a sua alimentação. Em seguida, ocorre a germinação dos esporos no fluido alcalino do intestino médio da larva, com a consequente penetração das células vegetativas na hemocele do inseto. Quando a célula vegetativa alcança o lado luminal da membrana basal, ocorre o ciclo primário de multiplicação da bactéria, e a larva infectada não forma pupa e morre, possivelmente em razão da perda de reservas lipídicas. Após o período de crescimento na hemolinfa, a bactéria esporula, e, com a desintegração do cadáver, os esporos são liberados no solo. As diferenças entre *P. popilliae* e *P. lentimorbus* têm sido estabelecidas pela cor da hemolinfa das larvas infectadas, por análises sorológicas, pela presença ou ausência dos corpos paraesporais e pelo tamanho relativo e posição do paraesporo (Harrison et al., 2000) no esporângio.

O primeiro programa bem-sucedido de controle de insetos baseado em um entomopatógeno bacteriano foi o uso de *P. popilliae* para controlar larvas do besouro japonês (*P. japonica*). Embora os esporos produzidos in vivo tenham sido distribuídos no nordeste da América do Norte para o controle de besouros japoneses, a dificuldade de produzir esporos in vitro inviabilizou o uso generalizado e a produção continuada desse microrganismo como agente de controle biológico. Pequenas quantidades de *P. popilliae* produzidas na América do Norte chegaram a ser usadas na Nova Zelândia e na América do Sul (Harrison et al., 2000).

Lysinibacillus sphaericus

Lysinibacillus sphaericus, anteriormente denominada de *Bacillus sphaericus*, é uma bactéria mesofílica produtora de esporos esféricos dentro de um esporângio em forma de raquete e comumente isolada de solo (Lacey, 2017). Essa bactéria já foi encontrada em amostras de âmbar com datação entre 24 a 40 milhões de anos e em solos e ambientes aquáticos (Jones et al., 2007).

As estirpes de *L. sphaericus* apresentam grande variabilidade e podem ser divididas em cinco grupos (de I a V) de acordo com a identidade de DNA. O grupo II apresenta duas subdivisões que são os subgrupos IIA e IIB. Os níveis relativamente baixos de identidade entre os grupos levaram à sugestão de que cada grupo poderia

representar uma espécie distinta, mas, em virtude da falta de testes específicos para distingui-los, todos permanecem designados como *L. sphaericus*. A análise por meio de características fenotípicas permite que alguns subgrupos sejam identificados, mas a correlação entre o fenótipo e o grupo de identidade do DNA ainda é insuficiente para a completa identificação e discriminação das estirpes da espécie. No entanto, traços fenotípicos, como a resistência aos antibióticos cloranfenicol, estreptomicina e tetraciclina, combinados com a capacidade de usar arginina como única fonte de carbono, são usados para desenvolver meios nutritivos enriquecidos para o crescimento das estirpes que sejam patogênicas a larvas de mosquito (Berry, 2012).

A toxicidade de *L. sphaericus* está principalmente relacionada à expressão de toxinas binárias e das toxinas que matam mosquitos. As toxinas binárias BinA e BinB são produzidas como uma estrutura cristalina ligada ao esporo. Por sua vez, as toxinas Mtx1, 2, e 3 são sintetizadas no estágio vegetativo, no entanto elas não são produzidas por todas as estirpes de *L. sphaericus* e são restritas a um grupo monofilético denominado linhagem tóxica (TL - do inglês *toxic lineage*) (Gómez-Garzón et al., 2017).

As toxinas binárias de *L. sphaericus* são tóxicas para insetos da ordem Diptera, principalmente larvas de mosquitos do gênero *Culex*, e não são ativas a várias espécies de *Aedes*, incluindo *A. aegypti*. Essa bactéria, entretanto, apresenta melhor persistência em campo se comparada a *B. thuringiensis* subespécie *israelensis* (Bti) e é um promissor agente de controle de vetores de importância na saúde pública (Lacey, 2017).

A avaliação de formulações de *L. sphaericus* em campo mostrou resultados similares em relação às formulações de *B. thuringiensis* subespécie *israelensis*. Fatores bióticos e abióticos podem influenciar a atividade larvicida das formulações de *L. sphaericus*, tais como a espécie do mosquito, as estratégias de alimentação dos mosquitos, taxa de ingestão, idade e densidade da larva, fatores associados ao habitat (temperatura, radiação solar, profundidade da massa de água, turbidez, conteúdo de taninos e compostos orgânicos, presença de vegetação, entre outros), fatores inerentes à formulação (tipo de formulação, conteúdo de toxinas, como efetivamente os compostos do formulado atingem o alvo e taxa de acomodação), condições de estocagem, fatores de produção, meios de aplicação e frequência dos tratamentos.

Brevibacillus laterosporus

Brevibacillus laterosporus é uma bactéria formadora de esporos pertencente ao grupo filogenético de *Brevibacillus brevis*, da família Paenibacillaceae (Shida et al., 1996). Seus esporos são reconhecíveis por microscopia de contraste de fase, em virtude da inclusão paraesporal típica em forma de canoa, que se encontra presa

a um lado do esporângio (Marche et al., 2016). Embora possua ampla distribuição e seja encontrada em solo, minerais, lama vulcânica, água doce, água do mar, corpos de insetos, superfícies foliares, sementes de alfarroba, compostos, leite, queijo, mel, alimentos ricos em amido, efluentes de fábricas de gelatina, pele e lã de animal e pequenas aves, é mais comumente encontrada em água, solo e insetos. Apesar de ter sido isolada de larvas de abelhas doentes, afetadas pela loque europeia, *B. laterosporus* foi considerada uma invasora bacteriana secundária e está listada entre as bactérias que não causam essa doença. Entretanto, pode ser útil no diagnóstico, por influenciar no odor e na consistência das larvas mortas, juntamente com *P. alvei*, *Enterococcus faecalis* e *Bacterium eurydice* (Ruiu, 2013). *Brevibacillus laterosporus*, além de ser uma espécie patogênica a insetos de diferentes ordens, incluindo Coleoptera, Diptera e Lepidoptera, também é patogênica a nematoides e moluscos (Ruiu, 2013). Até o momento, as espécies de Coleoptera descritas como suscetíveis à ação dessa bactéria são *Diabrotica* spp. e *A. grandis*. Entre os Diptera, a ação dessa bactéria tem sido relatada contra *Simulium vittatum* Zetterstedt, *Culex quinquefasciatus* Say, *A. aegypti* e *Musca domestica* Linnaeus. Por sua vez, em lepidópteros, a ação dessa bactéria foi verificada em *A. gemmatalis* e *Plutella xylostella* (Oliveira et al., 2004). Apesar de *B. laterosporus* ter sido isolada diretamente de cadáveres de insetos, a relação biológica e evolutiva com as espécies de insetos hospedeiros, bem como os mecanismos relacionados à patogenicidade ainda não são totalmente conhecidos (Marche et al., 2016).

A ação inseticida de diferentes linhagens de *B. laterosporus* parece envolver mecanismos semelhantes ao de *B. thuringiensis*, como, por exemplo, a interação entre as toxinas e os receptores que estão localizados no epitélio intestinal do inseto-alvo. Posteriormente à ingestão da toxina pelo inseto, ocorre o desequilíbrio osmótico e a paralisia intestinal, resultando em inanição, septicemia e morte. As toxinas produzidas por *B. laterosporus* são capazes de provocar a deterioração do epitélio do intestino das larvas, a desorganização do citoplasma e organelas e lesões na membrana celular e nas microvilosidades. Esses eventos combinados levam à extrusão do conteúdo citoplasmático das células do intestino do inseto hospedeiro (Carramaschi et al., 2017).

As toxinas produzidas foram determinadas a partir da caracterização bioquímica de estirpes de *B. laterosporus* ativas contra coleópteros. Bioensaios demonstraram que as toxinas inseticidas são similares às produzidas por *B. thuringiensis*. As toxinas denominadas proteínas inseticidas secretadas (Sips – do inglês *secreted insecticidal protein*), por serem secretadas no meio de cultura, apresentam atividade contra *Diabrotica* spp. e outras espécies de coleópteros, tais como *Leptinotarsa* spp. e *Anthonomus* spp. As Sips não apresentaram qualquer toxicidade contra Lepidoptera, e sua natureza proteica foi determinada por tratamento térmico e precipitação com

sulfato de amônio. Novas Sips, designadas como Sip1A e Sip2A, apresentam ação combinada, por isso é necessária a presença de cada proteína Sip complementar para causar toxicidade. Essas toxinas apresentam alta identidade com as proteínas vegetativas de *B. thuringiensis* da classe das proteínas inseticidas vegetativas (Vip – do inglês *vegetative insecticidal proteins*) e são atualmente classificadas como Vip1Da1 e Vip2Ad1. Outras proteínas Vips com massas moleculares de cerca de 80 kDa e 40 kDa também foram descobertas em estirpes de *B. laterosporus* e nomeadas como MIS (= Vip1Ba1) e WAR (= Vip2Ba1) (Ruiu, 2013).

Diversos genes potenciais codificadores de toxina de invertebrados foram identificados no genoma de *B. laterosporus* por sequenciamento de nova geração (NGS – do inglês *next generation sequencing*), incluindo os genes *cry* (Singh et al., 2012). Entretanto, o papel desses genes na toxicidade a insetos ainda não é conhecido. A grande variabilidade entre os isolados de *B. laterosporus* deve estar relacionada aos níveis de toxicidade variáveis em ensaios com *A. gemmatalis* e *Spotoptera frugiperda* (Smith) (Oliveira et al., 2004).

Há relatos de atividade larvicida de estirpes de *B. laterosporus* contra *A. aegypti* e *A. stephensi* a partir de cristais paraesporais, os quais são monocomponentes, com proteínas com massa molecular de 68 kDa ou 130 kDa. A alta atividade larvicida das linhagens de *B. laterosporus*, *A. aegypti* e *An. stephensi* sugere que essa bactéria tenha potencial de uso como agente de controle biológico de mosquitos (Zubasheva et al., 2010).

Serratia entomophila e *Serratia proteamaculans*

O gênero *Serratia* (Enterobacteriaceae) contém estirpes patogênicas a coleópteros. Essas bactérias são letais aos insetos-alvo quando colonizam a hemocele do inseto após algum processo de lesão ou estresse. *Serratia entomophila* e *S. proteamaculans* são os agentes causadores da doença âmbar em *Costelytra zealandica* (White) e *Pyronota* sp. (Coleoptera: Scarabaeidae). Essa doença tem uma patologia única, ou seja, após a ingestão de *S. entomophila*, as larvas de *C. zealandica* deixam de se alimentar em poucos dias; em seguida, ocorre a dissolução do intestino médio, o que resulta na característica coloração âmbar das larvas (Hurst et al., 2018).

Não é claro o mecanismo molecular da patogenicidade de *S. entomophila* e *S. proteamaculans*. No entanto, os determinantes patogênicos parecem estar codificados em um plasmídeo de 155 kb. Os dados de sequenciamento e as evidências genéticas mostraram que o componente *anti-feeding* (anti-alimentação) faz parte de um grande *cluster* (grupo) de genes que forma um prófago defeituoso que contém

três regiões de DNA: 1) o locus *amb2*; 2) um cassete completo e intacto para realizar a lise; e 3) um *cluster* de prófagos *anti-feeding*. Vários genes presentes na região anterior do grupo de genes do prófago parecem estar envolvidos no efeito *anti-feeding* (Hurst et al., 2003).

Três genes denominados *sep* estão associados à doença âmbar causada por *S. entomophila*. As proteínas Sep apresentam similaridade significativa com os complexos de toxina que são produzidos pelos entomopatógenos bacterianos *Photorhabdus luminescens* e *Xenorhabdus nematophila*. Essas proteínas estão associadas aos efeitos celômicos e não há muito conhecimento sobre sua atividade (Hurst et al., 2003).

Pseudomonas entomophila

O gênero *Pseudomonas* compreende várias espécies de gama-proteobactérias Gram-negativas, caracterizadas pela produção de numerosos metabólitos secundários. Uma estirpe foi capaz de desencadear, em larvas e adultos, a expressão de diptericina (peptídeo antimicrobiano) e foi altamente patogênica para *Drosophila* por ingestão oral (Vodovar et al., 2006).

A caracterização fenotípica revelou que as células de *P. entomophila* são bastonetes Gram-negativos que são móveis por meio de um flagelo polar. Essa bactéria é estritamente aeróbica e apresenta reação positiva para catalase e oxidase. *Pseudomonas entomophila* produz um pigmento fluorescente que não está relacionado com a piocianina. As colônias exibem forte atividade hemolítica em placas de ágar-sangue, atividade significativa de protease em placas com caseína e teste positivo de gelatinase (Dieppois et al., 2012).

A capacidade da *P. entomophila* de infectar oralmente e matar larvas de espécies de insetos pertencentes a diferentes ordens faz dela um modelo promissor tanto para o estudo de interações patógeno-hospedeiro quanto para o desenvolvimento de agentes de biocontrole contra insetos-pragas (Vodovar et al., 2006).

Vários genes de *P. entomophila* foram associados à sua entomopatogenicidade. Por exemplo, a presença de genes que codificam a toxina inseticida do tipo Tc (TcA, TcB e TcC) é particularmente notável, uma vez que elas eram encontradas em bactérias entomopatogênicas, tais como *P. luminescens*, *X. nematophila* e *Pseudomonas* (Chen et al., 2014).

Acredita-se que três serinas-proteases, denominadas Pseen3027, Pseen3028 e Pseen4433, e uma protease alcalina (Pseen1550) contribuem para a virulência de

P. entomophila. Em *P. putida*, elas estão ausentes. A enzima Pseen1550 é homóloga à enzima AprA, que parece estar envolvida na virulência em outras bactérias, protegendo contra a resposta imune e a degradação dos tecidos do hospedeiro. Notavelmente, a AprA demonstrou ser a proteína mais abundante no sobrenadante de *P. entomophila* (Vallet-Gely et al., 2010).

Pseudomonas entomophila também carrega vários genes que codificam fatores associados à superfície celular. Esses fatores geralmente contribuem para a patogênese, permitindo a adesão à superfície do hospedeiro e, assim, uma colonização efetiva. De acordo com o papel desses genes na virulência de *P. entomophila*, eles geralmente se agrupam com genes que codificam os sistemas de secreção do tipo I (T1SS). Por exemplo, T1SS, T3SS, T4SS e T6SS estão ativamente envolvidos na virulência de bactérias patogênicas, pois promovem a entrega direta de exo-proteínas para o meio extracelular (T1SS) ou para a célula hospedeira (T3SS, T4SS e T6SS). *Pseudomonas entomophila* demonstrou ser patogênica para três ordens de insetos: Diptera (*Anopheles gambiae* Gils e *Drosophila melanogaster* Meigen), Lepidoptera [*Bombyx mori* Linnaeus e *Galleria mellonella* (Linnaeus)] e Coleoptera [*Sitophilus oryzae* (Linnaeus)] (Dieppois et al., 2012).

Considerando essas observações, a patogênese geral de *P. entomophila* depende das seguintes propriedades: a capacidade de entrar e persistir no intestino do inseto, relacionada à sua capacidade de sobreviver tanto às condições físico-químicas quanto às defesas imunológicas desse órgão, e a secreção de substâncias tóxicas que perturbam a fisiologia do hospedeiro (Dieppois et al., 2012).

Clostridium bifermentans

O gênero *Clostridium* é um grupo heterogêneo que inclui aproximadamente 100 espécies anaeróbicas conhecidas. De forma mais eficiente, degradam polisacarídeos e proteínas e produzem uma variedade de produtos industrialmente importantes, como, por exemplo, acetona, butanol e etanol, que são produzidos por *Clostridium acetobutylicum*. Um segundo subgrupo importante compreende os clostrídios causadores de doenças humanas, tais como *C. tetani* e *C. perfringens*. Mais de 90% dos trabalhos com o gênero *Clostridium* abordam a biotecnologia industrial e os aspectos médicos. A descoberta de um novo serovar de *C. bifermentans*, *C. bifermentans* subsp. *malaysia* CH18, ampliou o campo de pesquisa para o controle biológico de insetos que utiliza esse gênero de bacilo (Barloy et al., 1996).

Clostridium bifermentans é um bacilo anaeróbio, formador de esporos, Gram-positivo, raramente registrado como infeccioso para humanos. *Clostridium bifermentans* subsp. *malaysia* produz uma variedade de toxinas com atividade con-

tra mosquitos e borrachudos. Essas características fazem com que *C. bifermentans* subsp. *malaysia* seja um agente microbiano promissor para o desenvolvimento de inseticidas biológicos destinados ao manejo de populações de mosquitos (Qureshi et al., 2014).

Clostridium bifermentans subsp. *malaysia* produz proteínas que são altamente tóxicas para as espécies de *Anopheles*. Sua toxicidade contra *An. stephensi* é cerca de dez vezes maior, mas sua toxicidade contra *C. pipiens* ou *A. aegypti* é dez vezes menor que a de *B. thuringiensis* subsp. *israelensis*. A expressão das toxinas ocorre durante a fase de esporulação e diminui consideravelmente com a lise celular. Observou-se que a incubação do meio de cultura onde havia crescido a bactéria in vitro com proteinase K por 2 horas a 37 °C destrói a toxicidade. Assim, a toxicidade é presumivelmente devida a um componente proteico que é suscetível a proteases liberadas quando a célula sofre lise. Diferentemente de *B. thuringiensis* e *B. sphaericus*, *C. bifermentans* subsp. *malaysia* não produz inclusões associadas à toxicidade, e os componentes tóxicos ainda estão sendo isolados. Entretanto, análises bioquímicas sugerem que quatro proteínas de 68 kDa, 66 kDa, 18 kDa e 16 kDa estão envolvidas na toxicidade (Qureshi et al., 2014).

Esses achados sugerem que essas proteínas poderiam se agregar em um complexo e que seriam instáveis quando submetidas a vários métodos de purificação. Essas toxinas putativas incluem um duplex de 66 kDa a 68 kDa (codificado pelos genes *cbm71* e *cbm72*) e duas outras pequenas proteínas de 18 kDa e 16 kDa (codificadas pelos genes *cbm17.1* e *cbm17.2*). As toxinas Cry16A e Cry17A, apresentam baixos níveis de toxicidade para os mosquitos *Anopheles*, *Aedes* e *Culex*. *Clostridium bifermentans* subsp. *malaysia* (Cbm) produz outras toxinas potenciais semelhantes a hemolisinas que individualmente não causaram mortalidade em mosquitos (Qureshi et al., 2014).

Chromobacterium subtsugae

Chromobacterium subtsugae é uma bactéria Gram-negativa que tem como características a pigmentação violeta e a mobilidade flagelar. Essa pigmentação, denominada violaceína, apresenta atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Essa bactéria apresenta crescimento ótimo a 25 °C, em pH 6,5–8,0 com até 1,5% de NaCl adicionado ao meio. Sua atividade é tóxica para larvas de coleópteros, como *Leptinotarsa decemlineata* Say e *Aethina tumida* Murray; larvas de lepidópteros, como *Diabrotica* spp. e *Plutela xylostella* (Linnaeus) quando ingerida oralmente; e larvas de hemípteros, como *Bemisia tabaci* (Gennadius) e *Nezara viridula* (Linnaeus) (Lacey, 2017). Além disso, possui um gene que codifica uma proteína

inseticida semelhante ao encontrado em *P. luminescens* e *X. nematophilia*. A maior mortalidade de insetos tratados com *C. subtsugae* ocorre em razão da combinação de células vivas e de compostos (toxinas inseticidas) presentes no meio líquido, os quais foram produzidos na fase estacionária de crescimento da bactéria (Martin et al., 2007).

As bactérias produtoras de toxinas são particularmente atraentes como agentes ativos para o desenvolvimento de novos produtos, uma vez que frequentemente possuem um espectro mais amplo de atividade, além de benefícios de formulação e aplicação. Um produto biológico contendo a estirpe PRAA4-1T de *C. subtsugae*, bem como seu respectivo meio de fermentação, foi registrado (EPA Reg. nº 84059-17-87865) visando à aplicação em cultivos de plantas comestíveis, ornamentais e grama, cujo efeito é tóxico para lagartas desfolhadoras e alguns coleópteros (Lacey et al., 2015).

Photorhabdus luminescens e *Xenorhabdus nematophila*

As bactérias entomopatogênicas pertencentes aos gêneros *Photorhabdus* e *Xenorhabdus* são representadas por bactérias endossimbiontes de nematoides entomopatogênicos. Essas espécies são bactérias Gram-negativas móveis e pertencem à família Enterobacteriaceae. *Photorhabdus luminescens* está tipicamente associada a nematoides entomopatogênicos do gênero *Heterorhabditis*, enquanto *X. nematophila* está associada a espécies de *Steinernema*. As bactérias liberadas na hemocele dos insetos através dos nematoides proliferam no corpo do inseto e produzem vários compostos antimicrobianos a fim de impedir o crescimento de outros microrganismos competidores. Essas bactérias liberam diferentes enzimas que contribuem para os processos de degradação na hemocele e, assim, criam um ambiente ideal para o desenvolvimento da população de nematoides (Ruiu, 2015).

Vários fatores de virulência bacteriana estão envolvidos na interação com o hospedeiro suscetível, e determinantes da patogenicidade foram identificados nessas duas espécies, incluindo fatores que favorecem a hemólise, as hidrolases, os lipopolissacarídeos e outras proteases.

Para conseguir infectar seu hospedeiro e sobreviver, *P. luminescens* deve ser capaz de produzir uma ampla gama de proteínas, incluindo toxinas. A análise genômica completa desse organismo revelou que existem muitos genes que codificam toxinas, proteases e lipases. Quatro ilhas de patogenicidade também foram identificadas no genoma de *P. luminescens*: três delas contêm genes que codificam toxinas e uma codifica um sistema de secreção do tipo III. As toxinas de *P. luminescens* são classificadas em quatro grupos principais: os complexos de toxinas (Tc – do inglês *toxin complexes*) que possuem alta identidade com os genes encontrados no genoma de *Yersinia pestis*;

as proteínas de *Photorhabdus* relacionadas a insetos (Pir – do inglês *Photorhabdus insect related*); as toxinas que “amolecem” as lagartas (Mcf – do inglês *makes caterpillars floppy*); e os cassetes de virulência de *Photorhabdus* (PVCs – do inglês *Photorhabdus virulence cassettes*) (Rodou et al., 2010).

As toxinas Tc são uma nova classe de toxinas inseticidas que demonstraram atividade oral e injetável e apresentaram resultados contra o coleóptero *L. decemlineata* e o hemíptero *B. tabaci*. Já as proteínas de *Photorhabdus* relacionadas a insetos (Pir) são classificadas em dois tipos (PirA e PirB) e apresentam similaridade com as delta-endotoxinas de *B. thuringiensis* e com uma esterase de hormônio de inseto. As toxinas Pir mostraram atividade oral e injetável contra o lepidóptero *G. mellonella*. Entretanto, o modo de ação das proteínas Pir não é compreendido.

A Mcf possui um domínio da proteína Bcl-2 (proteína pró-apoptótica) e, dessa forma, desencadeia a morte celular programada (apoptose) dentro dos hemócitos (fagócitos) e das células do epitélio do intestino médio dos insetos. Essa destruição do intestino médio reduz o turgor corporal da lagarta tornando-a “mole”. Essa proteína mostrou atividade contra *G. mellonella* e *Tenebrio molitor* Linnaeus.

Os PVCs correspondem a genes que apresentam sequência de aminoácidos semelhante à da toxina Mcf de *P. luminescens* ou à da toxina A de *Clostridium difficile*. Cada um desses cassetes codifica de 15 a 20 proteínas que se assemelham às piocinas do tipo R (tipo de bacteriocina). Os produtos proteicos dos PVCs não têm atividade antibacteriana direta, mas destroem os hemócitos de insetos (Rodou et al., 2010).

Bacillus thuringiensis

Esta bactéria foi isolada em 1901, no Japão, pelo bacteriologista Ishiwata, que descobriu ser ela a responsável pela mortalidade de larvas do bicho-da-seda, *B. mori* (Lepidoptera: Bombycidae). Em 1911, Berliner, na Alemanha, descreveu a mesma bactéria, isolada de larvas mortas de *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), a traça-da-farinha, e a chamou de *B. thuringiensis*, em homenagem à Turíngia, Alemanha, onde foram coletadas as lagartas. Em 1915, o mesmo autor notou a presença de inclusões paraesporais nas células de *B. thuringiensis*.

Bacillus thuringiensis é uma bactéria que produz, no momento de sua esporulação, inclusões proteicas cristalinas conhecidas como delta endotoxinas, as quais são altamente específicas aos seus insetos-alvo, inócuas ao ser humano, aos vertebrados e às plantas e têm efeito não poluente ao meio ambiente, por serem completamente biodegradáveis (Bravo et al., 2005). Nos anos 1960, foi isolada uma estirpe de *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki*, chamada HD-1 (Dulmage, 1970), que apresentou

toxicidade de 2 a 200 vezes superior à das estirpes normalmente utilizadas nos produtos comerciais. A partir de então, a procura por outras estirpes possuidoras de novas toxinas foi estimulada, e, em 1977, Goldberg e Margalit (1977) isolaram uma estirpe eficaz contra dípteros. Alguns anos mais tarde, em 1983, outra estirpe foi identificada como patogênica para coleópteros (Krieg et al., 1983). No mundo inteiro, diversas estirpes de *B. thuringiensis* foram isoladas, e atualmente muitos laboratórios continuam procurando novas estirpes. Existem várias coleções espalhadas pelo globo e estima-se que existam em torno de 50 mil estirpes conhecidas, entre as quais algumas são tóxicas para nematoides, trematoides, protozoários, himenópteros, hemípteros, ortópteros e ácaros.

Estirpes de *B. thuringiensis* foram encontradas em todas as partes do mundo, provenientes de vários substratos, como solo, água, superfície de plantas, insetos mortos, teias de aranha e grãos armazenados (Bravo et al., 1998). O número de unidades formadoras de colônias por grama de solo pode chegar a 10^4 , e as subespécies mais frequentemente encontradas são *kurstaki* e *galleriae*. Não existe evidência de correlação entre tipo de solo, quantidade, subespécies ou atividade inseticida (Damgaard et al., 1994).

As possibilidades de utilização de *B. thuringiensis* foram reconhecidas em controle biológico. Em 1938, um produto à base dessa bactéria, denominado Sporeine, foi produzido na França. A partir dos anos 1950, diversos países, como a antiga União das Repúblicas Socialistas Soviéticas (URSS), a antiga Tchecoslováquia, a França, a Alemanha e os Estados Unidos, começaram a produzir inseticidas biológicos à base de *B. thuringiensis* (Weiser, 1986).

Para o desenvolvimento de novos bioinseticidas, é fundamental a descoberta de estirpes com maior atividade ou mais adaptadas às condições ambientais onde esses produtos serão utilizados. Pode-se apontar como exemplo desse tipo de trabalho o isolamento de estirpes nativas de *B. thuringiensis* e de *B. sphaericus* (*L. sphaericus*) mais tóxicas do que as respectivas estirpes-padrão, e com toxicidade causada por toxinas codificadas por genes ainda não descritos (Ibarra et al., 2003; Monnerat et al., 2004, 2005, 2007; Martins et al., 2007).

A taxonomia de *B. thuringiensis* tem sido alvo de muitos estudos. Várias tentativas de classificação foram realizadas, a começar pela elaboração de uma listagem de subespécies de bactérias, relacionando-as a insetos susceptíveis, passando pelo perfil enzimático e pela morfologia. Até 1960, essas metodologias eram utilizadas na classificação, apesar de serem pouco apropriadas para uma classificação segura das estirpes isoladas em diversas regiões do globo. Em 1962, De Barjac e Bonnefoi introduziram o conceito dos “antígenos H” como elemento diferenciador de estirpes,

com base em substâncias existentes no flagelo de *Bacillus*. Esse sistema de classificação permitiu grande avanço na sistemática desses microrganismos (De Barjac et al., 1980). Outras técnicas foram propostas, tais como: a eletroforese de esterases, os antígenos do cristal, a eletroforese multilocus das isoenzimas, a cromatografia dos ácidos graxos e a análise de plasmídeos.

Diversos genes que codificam delta-endotoxinas foram clonados e caracterizados, permitindo melhor análise das toxinas de cada grupo pela utilização de anticorpos monoclonais ou por sondas específicas de DNA. A reação em cadeia da polimerase (PCR – do inglês *polymerase chain reaction*) permite amplificar uma sequência conhecida do DNA bacteriano e efetuar estudos comparativos entre estirpes de uma mesma espécie e de um mesmo sorotipo. Muitos oligonucleotídeos estão disponíveis para serem utilizados em reações de PCR, visando identificar genes específicos de *B. thuringiensis* (Martins et al., 2008; Aguiar et al., 2012).

Bacillus thuringiensis produz diferentes fatores de virulência, como as δ -endotoxinas, α -exotoxinas, β -exotoxinas, hemolisinas, enterotoxinas, quitinases e fosfolipases. Algumas estirpes produzem toxinas na fase de crescimento vegetativo, denominadas Vip (Estruch et al., 1996) e proteínas inseticidas secretadas (Sip) (Donovan et al., 2006); moléculas bioestimuladoras e biofertilizadoras, como fito-hormônios, proteínas solubilizadoras de fosfato e sideróforos (Raddadi et al., 2007, 2008); além de proteínas parasporinas, as quais exibem atividade citotóxica específica contra células humanas de câncer (Ohba et al., 2009).

TOXINAS PRODUZIDAS POR *BACILLUS*

δ -endotoxinas

As δ -endotoxinas são as mais estudadas e compreendem as proteínas Cry e Cyt. As proteínas Cry são tóxicas para diferentes insetos das ordens Lepidoptera, Coleoptera, Hymenoptera, Diptera e para nematoides, enquanto as proteínas Cyt são, na maioria das vezes, tóxicas para insetos da ordem Diptera (Palma et al., 2014).

Cada nova toxina de *B. thuringiensis* recebe um nome que se baseia na identidade de aminoácidos das toxinas previamente nomeadas. Esse nome é determinado pelo Comitê de Nomenclatura de Toxinas de *B. thuringiensis*, criado em 1993 (Crickmore et al., 1998, 2018). O agrupamento por esse critério não implica uma proteína com estrutura similar, com a mesma gama de hospedeiros e mesmo modo de ação. Assim,

para formar o nome da proteína, quatro subcategorias foram criadas: proteínas que compartilham identidade inferior a 45% (atribui-se um número arábico), proteínas que compartilham identidade inferior a 78% (atribui-se uma letra maiúscula), proteínas que compartilham identidade inferior a 95% (atribui-se uma letra minúscula) e proteínas que compartilham mais de 95% de identidade (atribui-se um número arábico). As proteínas Cry estão classificadas em 75 grupos e diferentes subgrupos e são codificadas por mais de 840 genes *cry* já sequenciados (Crickmore et al., 2018) (Figura 1).

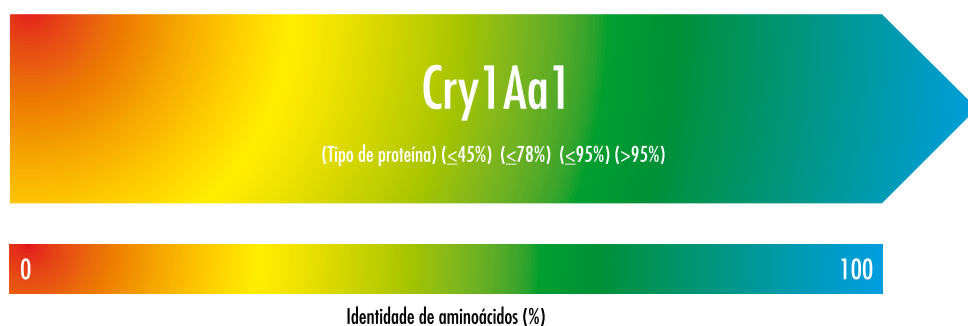


Figura 1. Diagrama para entendimento da nomenclatura para proteínas Cry. Para identidade inferior a 45%, atribui-se um número arábico; para identidade inferior a 78%, letra maiúscula; para identidade inferior a 95%, letra minúscula; e para identidade acima de 95%, número arábico.

Dos muitos grupos de toxinas de Cry atualmente descritos (Bt nomenclature, 2019), as toxinas Cry3d (toxinas Cry de três domínios) representam a maior família e têm sido as mais estudadas no que se refere tanto à toxicidade quanto ao modo de ação. As toxinas Cry3d apresentam dois tamanhos de protoxinas diferentes: as protoxinas curtas, que têm tamanho de aproximadamente 70 kDa; e as protoxinas longas, com 130 kDa. Ambas formam inclusões cristalinas que podem originar cristais com diferentes formas: bipiramidal, romboide ou oval.

Evdokimov et al. (2014) mostraram a estrutura tridimensional da protoxina de Cry1Ac. A região C-terminal da protoxina é composta por mais quatro domínios além dos três que podem ser vistos nas toxinas ativas. Esses domínios foram numerados de IV a VII. Os domínios IV e V são compostos por α -hélices e assemelham-se a domínios estruturais/de interação, enquanto os domínios V e VII são formados de cadeias β e não são significativamente diferentes da estrutura das toxinas Cry ativadas.

O modo de ação das toxinas Cry tem sido caracterizado principalmente em insetos lepidópteros, e o processo pode ser dividido em várias etapas: solubilização e processamento das toxinas, união ao receptor, inserção da toxina na membrana, agregação de oligômeros, formação do poro e citólise (Bravo et al., 2005). O processo de ativação dessas toxinas por proteases secretadas no lúmen do intestino dos

insetos ocorre pela clivagem de um fragmento da região N-terminal, tanto em protoxinas curtas, quanto em protoxinas longas, e de uma parte importante da região C-terminal (cerca de 600 aminoácidos) que também é digerida. A ativação resulta em um núcleo final resistente à ação proteolítica, de 60 kDa, com uma estrutura composta de três domínios (Figura 2). A região terminal C das protoxinas longas poderia estar envolvida na formação de cristais e não ser essencial para a ação tóxica, uma vez que é clivado durante a ativação da toxina. No entanto, essa região é extremamente conservada em todas as protoxinas Cry (De Maagd et al., 2003).

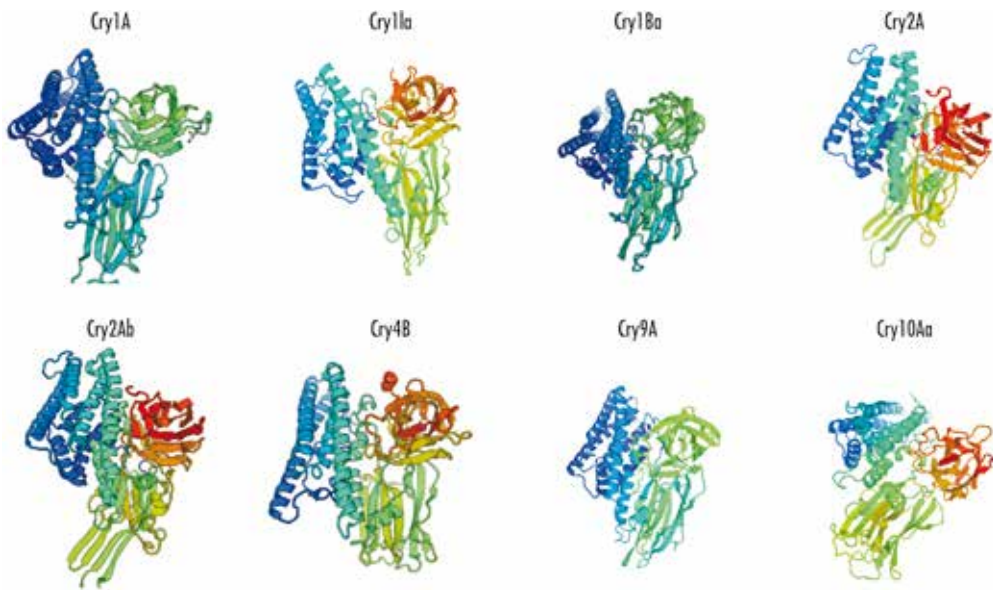


Figura 2. Estrutura tridimensional de oito toxinas Cry3d preditas no programa Swiss-Model.

Fonte: Adaptado de Bravo et al. (2015).

A ação das proteínas Cry3d é complexa e envolve múltiplos mecanismos (Gomez et al., 2014). No caso das toxinas Cry1A que são ativas contra insetos lepidópteros, demonstrou-se que elas sofrem um mecanismo de ligação sequencial a proteínas ancoradas em glicosil-fosfatidil-inositol (GPI), tais como fosfatase alcalina (ALP) ou aminopeptidase-N (APN), e à proteína do tipo caderina (CAD), o que resulta na formação de uma estrutura oligomérica denominada pré-poro, que é capaz de se inserir dentro das membranas e formar os poros (Bravo et al., 2011; Pardo López et al., 2013). O reconhecimento do receptor pelas toxinas Cry tem sido considerado um passo-chave para toxicidade das proteínas Cry, sendo fundamental para a especificidade ao inseto.

Duas hipóteses têm sido propostas para explicar como as toxinas Cry1A agem no intestino dos insetos: uma pela formação de poros e a outra por via de sinalização (Bravo et al., 2004; Zhang et al., 2006). Essas teorias compartilham etapas iniciais,

nas quais protoxinas Cry1A são ingeridas, solubilizadas no intestino e clivadas pela ação de proteases do intestino médio (como a tripsina), a fim de produzir toxinas monoméricas ativadas que se ligam à caderina com afinidade. O modelo de sinalização sugere que as toxinas monoméricas ativadas por protease se liguem à caderina, iniciando uma cascata de sinalização que leva à morte celular. Em contraste, com base nos resultados de experiências *in vitro* e bioensaios, o modelo de formação de poros propõe que os monômeros ativados por protease se liguem à caderina para facilitar a clivagem proteolítica da região N-terminal da toxina, incluindo a alfa-hélice-1 do domínio I (Gómez et al., 2002; Jiménez-Juárez et al., 2007). Essa clivagem induz a formação de oligômero da toxina, aumentando a afinidade de ligação dela a receptores secundários (Soberón et al., 2016).

Gómez et al. (2014) demonstraram que a toxina Cry1Ab, tanto em sua forma de protoxina quanto na de toxina ativada, é capaz de se ligar à caderina com afinidades semelhantes e que dois diferentes pré-poros foram observados interagindo com a caderina na presença de proteases intestinais do inseto. Esses pré-poros diferiram em seu tamanho, sensibilidade à temperatura, na capacidade de inserirem-se em membranas e nas características de formação do poro. O mecanismo de ação de Cry3d é complexo e mostra que a região da protoxina não clivada pode ter um papel funcional, selecionado durante a evolução, uma vez que a presença desse fragmento na proteína permite um mecanismo de ação alternativo que, em 2015, foi denominado por Tabashnik et al. (2015) de “modelo dual”. Esses autores demonstraram que a atividade de protoxinas, inicialmente proposta por Gómez et al. (2014), foi muito importante para o controle de insetos resistentes a toxinas Cry. Eles testaram tanto a toxina quanto a protoxina de Cry1A para *Helicoverpa armigera* (Hübner), *Helicoverpa zea* (Boddie) e *Diatraea saccharalis* Fabricius. Os resultados mostram que as protoxinas foram mais potentes que as toxinas ativas, o que contradiz o modelo clássico e dá suporte ao modelo dual.

Em geral, quatro receptores proteicos têm sido descritos como possíveis moléculas para ligação das proteínas Cry aos intestinos dos insetos susceptíveis: uma proteína do tipo caderina (CADR), uma aminopeptidase-N ancorada em glicosilfosfatidil-inositol (GPI), uma fosfatase alcalina ancorada em glicosilfosfatidil-inositol (GPI) e um glicoconjugado de 270 kDa (Bravo et al., 2007; Gómez et al., 2007). Outros experimentos têm mostrado que glicolípídeos também podem estar envolvidos como moléculas receptoras em alguns insetos e nematoides (Gómez et al., 2007).

As proteínas caderinas representam uma grande família de glicoproteínas responsáveis pelo contato intercelular. São proteínas transmembranas com um domínio citoplasmático e um ectodomínio extracelular com várias repetições de caderinas. No caso do receptor Bt-R1, as repetições de caderinas são em número de 12 (Vadlamudi

et al., 1995). Chen et al. (2005) demonstraram que a CADR de *Manduca sexta* (Linnaeus) está localizada nas microvilosidades das células do intestino médio da lagarta.

As aminopeptidases N (APN) são exopeptidases ancoradas em GPI. As APN de vários grupos de insetos lepidópteros foram classificadas dentro de quatro grupos: APN1, APN2, APN3 e APN4. Vários estudos demonstraram que APN1 está relacionada com a ligação da proteína Cry1Ac (Oltean et al., 1999; Gill; Ellar, 2002; Gómez et al., 2007).

As APN e as ALP são ambas proteínas ancoradas em GPI. Elas estão incluídas em plataformas de lipídeos (*lipid rafts*) que estão ordenadas em espaços diferenciados dentro de microdomínios das membranas celulares. Essas plataformas de lipídeos são enriquecidas com glicoesfingolipídeos, colesterol e com proteínas ancoradas em GPI e, possivelmente, estão envolvidas em vias de transdução de sinal. Segundo Gómez et al. (2007), a interação de toxinas que formam poros com as proteínas Cry com plataformas de lipídeos pode resultar em eventos celulares adicionais, incluindo internalização da toxina, transdução de sinal e resposta celular.

Diversos receptores presentes no intestino dos insetos foram identificados. As toxinas, o tamanho e a identidade dos receptores e os insetos-alvo estão listados na Tabela 1.

A partir do momento em que as larvas de insetos suscetíveis ingerem os cristais e esporos de *B. thuringiensis*, são observados os seguintes sintomas: perda

Tabela 1. Principais receptores encontrados nas várias espécies de insetos-alvo das proteínas Cry.

Toxina	Inseto-alvo	Receptor		Referência
		Tamanho (kDa)	Identidade	
Cry1Aa	<i>Bombyx mori</i>	120	Aminopeptidase N	Yaoi et al. (1997)
Cry1Ab	<i>Manduca sexta</i>	210	Caderina	Vadlamudi et al. (1995)
Cry1Ab	<i>M. sexta</i>	120	Aminopeptidase N	Denolf et al. (1997)
Cry1Ab	<i>Plutella xylostella</i>	120	Aminopeptidase N	Denolf et al. (1997)
Cry1Ac	<i>M. sexta</i>	120	Aminopeptidase N	Knight et al. (1994) Sangadala et al. (1994)
Cry1Ac	<i>Heliothis virescens</i>	120	Aminopeptidase N	Gill et al. (1995)
Cry1Ac	<i>Lymantria dispar</i>	120	Aminopeptidase N	Valaitis et al. (2001)
Cry1Ac	<i>P. xylostella</i>	120	Aminopeptidase N	Luo et al. (1997)
Cry1C	<i>M. sexta</i>	120	Aminopeptidase N	Luo et al. (1996)
Cry4Ba	<i>Aedes aegypti</i>	65	GPI-fosfatase alcalina	Fernandez et al. (2006)
Cry11Aa	<i>A. aegypti</i>	65	GPI-fosfatase alcalina	Fernandez et al. (2006)
Cry11Ba	<i>Anopheles quadrimaculatus</i>	120	Aminopeptidase N	Abdullah et al. (2006)

do apetite e abandono do alimento, paralisia do intestino, vômito, diarreia, paralisia total e, finalmente, a morte. As larvas infectadas por *B. thuringiensis* perdem agilidade e o tegumento adquire tonalidade de cor marrom-escuro. Após a morte, a larva apresenta cor negra, característica das infecções provocadas pela bactéria.

Proteínas Vip e Sip

Durante a fase de crescimento vegetativo do Bt, algumas estirpes produzem proteínas que são secretadas no meio e têm propriedades inseticidas, ampliando o alcance geral do uso dessa bactéria em programas de controle biológico de insetos. As proteínas inseticidas secretadas dividem-se em duas classes: Vip e Sip. As proteínas Vip são classificadas em quatro famílias diferentes de acordo com o grau de identidade dos aminoácidos: Vip1, Vip2, Vip3 e uma nova família de proteínas Vip identificada e classificada como Vip4. O espectro de insetos a serem controlados pela toxina Vip4Aa1 ainda é desconhecido (Palma et al., 2014).

As proteínas secretadas de Bt, como Vip1, Vip2 e Sip, contêm sequências de peptídeos sinais que são conservadas e comumente clivadas antes ou depois de o processo de secreção se completar. As proteínas Vip1 e Vip2 atuam como uma toxina binária com alta atividade inseticida contra coleópteros e hemípteros. Em contraste, as proteínas Vip3 são toxinas de cadeia única (não binárias) com atividade inseticida contra uma grande variedade de espécies de lepidópteros (Hernández-Rodríguez et al., 2009).

Proteínas binárias Vip1 e Vip2

Os genes *vip1* e *vip2* são transcritos em um produto policistrônico a partir de um único óperon de 4 kb e codificam proteínas de massas moleculares aproximadas de 100 kDa e 50 kDa. Juntas, as proteínas Vip1 e Vip2 constituem uma toxina binária. Além disso, as cadeias polipeptídicas das proteínas Vip1 e Vip2 contêm sequências de peptídeos-sinais localizadas na região N-terminal. Esses peptídeos-sinais são típicos de *Bacillus*, e a proteína Vip1 é processada N-terminalmente após a secreção em uma proteína madura de aproximadamente 80 kDa, cujo tamanho é menor que o da proteína originalmente expressa. A toxina binária Vip1/Vip2 mostrou atividade tóxica contra larvas de um coleóptero (*Diabrotica* spp.) e de um hemíptero (*Aphis gossypii*). A comparação entre a identidade de aminoácidos dessas toxinas e outras toxinas binárias bacterianas sugere que Vip1 e Vip2 formem toxinas binárias típicas do tipo A+B, em que Vip2 é o domínio-A citotóxico e Vip1 é o domínio-B de ligação

ao receptor responsável pela translocação de Vip2 citotóxica para dentro da célula do hospedeiro.

Na proteína Vip2, a sequência e a estrutura apresentam similaridade com o domínio enzimático da toxina Cdt A de *C. difficile*. Ambas possuem atividade de ADP-ribosiltransferase, que atua na actina, induzindo desordens do citoesqueleto e morte celular. O mecanismo de ação proposto envolve a ativação proteolítica do precursor B de ligação celular (Vip1) e sua interação monomérica com o receptor da superfície celular, seguida da formação de homo-heptâmeros que translocam o componente tóxico A (Vip2) no citoplasma por meio de vesículas de endocitose (endossomos) ácidas. Uma vez dentro do citoplasma, o componente A destrói a actina filamentosa (polimerizada), provavelmente pela mono-ADP-ribosilação do resíduo de aminoácido Arg177 da G-actina, bloqueando sua polimerização e levando à morte celular pela desorganização do citoesqueleto (Palma et al., 2014).

Proteínas Vip3

Os primeiros genes *vip3* foram originalmente clonados a partir de *B. thuringiensis* estirpes B88, AB88 e AB424 e foram designados como *vip3Aa1* e *vip3Ab1*, respectivamente. Os genes codificam proteínas de 791 aminoácidos (massa molecular de 88,5 kDa) e não apresentam identidade com qualquer outra proteína inseticida conhecida. As proteínas Vip3A exibem atividade inseticida contra vários lepidópteros, como, por exemplo, *Agrotis ipsilon* (Hufnagel), *Spodoptera exigua* (Hübner) e *S. frugiperda*. Existem três subfamílias diferentes de proteínas Vip3 que foram designadas como Vip3A, Vip3B e Vip3C (Macintosh et al., 1990; Palma et al., 2012).

Com relação à secreção, as proteínas Vip3 contêm sequências de peptídeo-sinal conservadas, mas não típicas, que não são processadas durante a secreção e estão presentes no peptídeo maduro secretado. O tratamento de Vip3Aa1 com extratos obtidos do intestino médio de insetos suscetíveis ou com tripsina libera quatro produtos proteicos principais com massas moleculares de 22 kDa, 33 kDa, 45 kDa e 66 kDa. O fragmento de 66 kDa é separado da porção N-terminal de 22 kDa e é conhecido como “núcleo resistente à tripsina” ativado. Essa porção processada de proteínas Vip3, que é a principal fração polipeptídica que retém a toxicidade, pode variar em tamanho de 62 kDa a 66 kDa e permanece altamente conservada entre diferentes proteínas Vip3. Quando esse fragmento ativado foi clonado e expresso em *E. coli*, não foi observada toxicidade contra espécies de insetos previamente consideradas suscetíveis, sugerindo que a porção N-terminal de 22 kDa é necessária para toxicidade ou dobramento (Li et al., 2007).

A análise preliminar da estrutura da protoxina Vip3Ag4 por microscopia eletrônica sugere fortemente que as moléculas da proteína podem ser agrupadas formando uma estrutura tetramérica.

Embora existam evidências de que as proteínas Vip3 atuam por formação de poros, o modo de ação das proteínas Vip3 permanece pouco compreendido. Uma proposta de mecanismo de ação sugere que a toxina Vip3A ativada se liga às células epiteliais do intestino médio de insetos suscetíveis, causando sua lise, paralisia intestinal e morte larval. Observa-se que as proteínas Vip e Cry não competem pelos mesmos sítios de ligação nos lepidópteros *M. sexta* e *S. frugiperda*. Essas propriedades da Vip3 abrem a possibilidade de desenvolvimento de biopesticidas à base de Bt para o controle de um número maior de pragas e para o manejo de insetos resistentes a eventos transgênicos que expressam toxinas Cry de Bt (Mehlo et al., 2005; Palma et al., 2014).

Proteína Vip4

O gene *vip4Aa1* tem 2.895 pb e codifica uma proteína de 965 resíduos de aminoácidos com massa molecular de aproximadamente 108 kDa. Sua sequência proteica prevista exibiu 34% de identidade com a proteína Vip1Aa1. A análise da sequência proteica detectou uma sequência peptídica de sinal e mais dois domínios conservados: um domínio PA14 do antígeno protetor do *Bacillus anthracis* (família InterPro IPR011658) e um domínio da exotoxina bacteriana denominada ToxB_Binária (família InterPro IPR003896). Este último domínio é comumente encontrado em proteínas Vip1 binárias e em outras toxinas bacterianas relacionadas. As propriedades inseticidas (atividade e lista de hospedeiros) dessa proteína permanecem desconhecidas, embora Vip4Aa1 pareça estar filogeneticamente mais relacionada às proteínas Vip1 do que aos outros dois grupos de proteínas Vip (Vip2 e Vip3).

Proteína Sip

A proteína Sip constitui o primeiro e único membro dessa família de proteínas inseticidas secretadas por Bt e apresenta toxicidade contra larvas de coleópteros. A proteína Sip foi inicialmente obtida a partir do sobrenadante da estirpe de Bt EG2158 e foi designada como Sip1Aa1

O gene *sip1Aa1* tem 1.104 pb e codifica uma proteína de 367 aminoácidos com massa molecular aproximada de 41 kDa. A proteína Sip1Aa1 exibe um peptídeo-sinal com sequência de consenso típica de bactérias Gram-positivas com 30 aminoácidos de comprimento. No entanto, a proteína foi encontrada processada na região N-terminal, com seus primeiros 43 aminoácidos clivados por proteases

ativas presentes no meio de cultura. Dessa forma, sugere-se que a proteína Sip1A seja liberada no sobrenadante da cultura por secreção específica, orientada pelo peptídeo-sinal (Donovan et al., 2006).

Essa proteína apresenta identidade de sequência de aminoácidos baixa, mas significativa em relação à toxina de *L. sphaericus* denominada Mtx3 (membro da família de toxinas Etx_Mtc2), de 36 kDa, com efeito relatado contra mosquitos. Entretanto, não foi relatada qualquer atividade dessa toxina contra dípteros. Com relação à função, observa-se que essa homologia sugere fortemente que a toxicidade de Sip1Aa1 pode ser causada pela formação de poros, mas seu modo de ação permanece desconhecido. A proteína Sip1Aa1 é letal para *L. decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae) e inibe o crescimento de *Diabrotica undecimpunctata howardi* (Coleoptera: Chrysomelidae) e *Diabrotica virgifera* Le Conte (Palma et al., 2014).

Complexos de toxinas

As proteínas Tc são toxinas inseticidas de alta massa molecular, com múltiplas subunidades, produzidas por bactérias Gram-negativas e Gram-positivas. Os genes que codificam essas toxinas, genes do complexo de toxina (denominados de *tc*), foram primeiramente descritos em bactérias (*Photorhabdus* e *Xenorhabdus*) que coexistem com nematoides que matam insetos (nematoides entomófagos). Subsequentemente, loci semelhantes a *tc* foram documentados em outras espécies bacterianas, algumas claramente associadas à toxicidade a insetos, como, por exemplo, *S. entomophila* (Ffrench-Constant et al., 2007).

As proteínas Tc foram originalmente identificadas como vários complexos inseticidas de alta massa molecular presentes no sobrenadante da estirpe W14 de *P. luminescens* (Bowen; Ensign, 1998).

Usando técnicas bioquímicas e moleculares, quatro complexos proteicos diferentes foram separados e denominados Tca, Tcb, Tcc e Tcd (Bowen; Ensign, 1998), com a identificação dos seus respectivos genes (*tca*, *tcb*, *tcc* e *tcd*) e loci genômicos. O modo pelo qual a proteína Tca purificada demonstrou romper o epitélio do intestino médio de insetos foi semelhante ao das delta-endotoxinas de Bt (Ffrench-Constant et al., 2007).

Adotando o esquema dos componentes das toxinas ABC sugerido por Ffrench-Constant et al. (2003), o óperon completo possui os componentes A (*tcaA* e *tcaB*), B (*tcaC*) e C (*tccC*) (Figura 3).

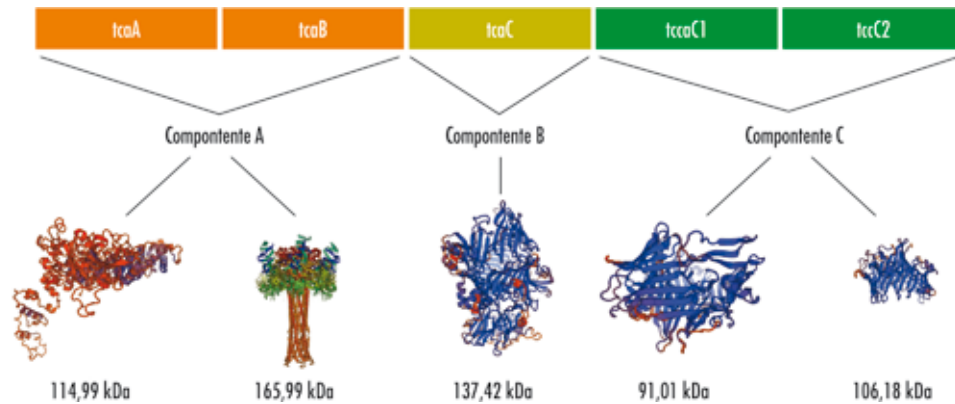


Figura 3. Distribuição dos genes *tc* ao longo do seu respectivo óperon (policistrônico) na bactéria *P. luminescens*, que, quando ativado, resulta na expressão de um RNAm's policistrônico que codifica cinco proteínas com massas moleculares diferentes.

Na dinâmica dessas toxinas, observou-se que os quatro loci originais (*tca*, *tcb*, *tcc* e *tcd*) não codificam todos os três componentes ABC em cada locus *tc* individual. Na verdade, apenas *tcd* codifica todos os três componentes do complexo, em que A é codificado por *tcdA*, B por *tcdB* e C por *tccC2*. Em cada um dos outros três loci, um dos componentes ABC encontra-se ausente e está localizado em outra parte do genoma bacteriano. Por exemplo, o locus *tca* não possui um componente C, que é codificado por outro locus *tccC* não fisicamente ligado ao próprio locus *tca* (Waterfield et al., 2002).

As proteínas Tc são ativas por via oral e exercem seu efeito tóxico extracelularmente em relação à célula bacteriana. A toxina semipurificada exibe toxicidade oral contra ampla gama de hospedeiros, causando mortalidade rápida em muitas pragas de insetos das ordens Coleoptera (por exemplo, besouros) e Lepidoptera (por exemplo, mariposas), bem como em ortópteros, como *Locusta migratoria* (Linnaeus). Análises histológicas mostram uma dissolução geral do intestino médio larval no prazo de 48 horas após a ingestão da proteína, o que é consistente com os efeitos relatados de outras toxinas Tc, incluindo Tca de *P. luminescens* (Waterfield et al., 2002).

Agrupamento de toxinas de bactérias entomopatogênicas

As estirpes de bactérias listadas anteriormente são capazes de produzir diferentes tipos de substâncias com potencial de ação tóxica contra várias espécies de insetos. A análise das sequências de DNA 16S das várias espécies permitiu demonstrar a distribuição das toxinas. A partir de dados obtidos das sequências 16S (Tabela 2) das várias espécies de bactérias entomotóxicas, foi feito um dendrograma para correlacionar a distribuição das toxinas nas diferentes espécies (Figura 4).

Tabela 2. Espécies de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas produtoras de substâncias tóxicas para várias espécies de insetos das ordens Coleoptera e Lepidoptera.

Espécie	Ordem de inseto-alvo	Toxina	Tamanho do genoma (pb)	Nº total de genes	Nº total de genes que codificam rRNA	Nº total de genes que codificam tRNA	Guanina + Citosina (%)	Sequência de DNA 16S (GenBank)
<i>Bacillus thuringiensis</i>	Coleoptera, Diptera, Lepidoptera, Hemiptera e Himenoptera	Cry, Cyt, Vip e Sip	5.292.526	5.234	42	106	35,4	AM779002.1
<i>Brevibacillus laterosporus</i>	Coleoptera, Diptera e Lepidoptera	Proteínas inseticidas secretadas (semelhantes às Vip) e Cry	5.272.435	5.031	13	112	41,3	EU159585.1
<i>Chromobacterium subsugae</i>	Coleoptera, Diptera, Hemiptera e Lepidoptera	Agentes bioativos	4.788.922	4.492	3	33	64,8	NR_042853.1
<i>Clostridium bifermentans</i>	Diptera	Cry16A, Cry17A, Cbm17.1 e Cbm17.2	3.475.995	3.380	5	51	28,0	NR_113323.1
<i>Lysinibacillus sphaericus</i>	Diptera	Bin, Mtx e Cry48/49	4.856.302	4.499	7	38	37,5	KM013812.1
<i>Paenibacillus larvae</i>	Himenoptera	Toxinas AB (Plx2, Plx3, Plx4 e Plx5), gene do domínio B (TxII) e Mtx2	4.185.110	4.806	52	71	44,0	DQ079621.1

Continua...

Tabela 2. Continuação.

Espécie	Ordem de inseto-alvo	Toxina	Tamanho do genoma (pb)	Nº total de genes	Nº total de genes que codificam rRNA	Nº total de genes que codificam tRNA	Guanina + Citosina (%)	Sequência de DNA 16S (GenBank)
<i>Paenibacillus lentimorbus</i>	Coleoptera	Cry43Aa1 e Cry43Ba1	3.912.556	4.565	5	108	46,3	AF071861.1
<i>Paenibacillus popilliae</i>	Coleoptera	CryBP1 (Cry18Aa1)	3.833.720	4.043	14	75	51,0	AF071860.1
<i>Photobacillus luminescens</i>	Coleoptera, Diptera, Hymenoptera e Lepidoptera	Complexo de toxinas (Tc) e Pyr	5.690.000	4.977	22	84	42,8	Y17605.1
<i>Pseudomonas entomophila</i>	Coleoptera, Diptera e Lepidoptera	Toxina inseticida do tipo Tc	5.900.000	5.169	7	78	64,2	NR_102854.1
<i>Serratia entomophila</i>	Coleoptera	SepA, SepB, SepC e Afp	ne	ne	ne	ne	ne	EU250329.1
<i>Serratia proteamaculans</i>	Coleoptera	SepA, SepB, SepC e Afp	5.324.944	5.008	22	82	55,0	KY934181.1

ne = Não encontrada nas bases de dados de sequências de DNA.

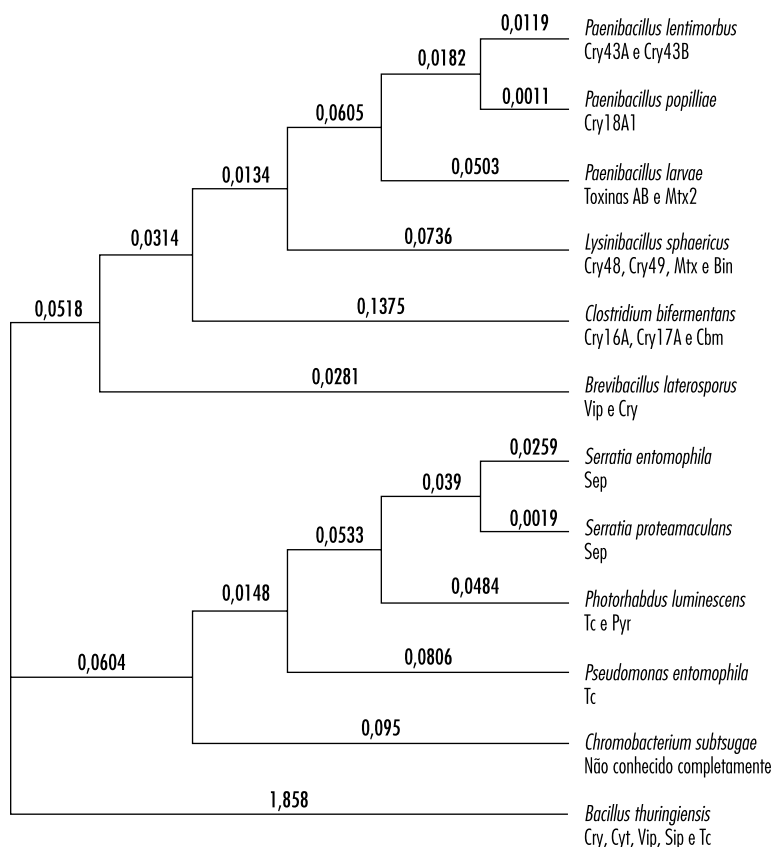


Figura 4. Relação entre a similaridade genética baseada na sequência nucleotídica do gene de DNA ribossomal 16S e a distribuição das toxinas entre as várias espécies de bactérias entomopatogênicas.

A análise comparativa da sequência nucleotídica do gene que codifica a região 16S de algumas espécies de bactérias que apresentam potencial no controle de insetos revelou a existência de três agrupamentos no dendrograma (Figura 4).

No primeiro agrupamento, estão identificadas as espécies *P. lentimorbus*, *P. popilliae*, *P. larvae*, *L. sphaericus*, *C. bifermentans* e *B. laterosporus*. Para essas espécies, são descritas várias toxinas, tais como Cry16A, Cry17A, Cry18Aa1, Cry43A, Cry43B, Cry48 e Cry49, além das toxinas do tipo AB, Mtx, Bin e cbm. Em *B. laterosporus*, são encontradas proteínas que se assemelham às Vip e Cry de *B. thuringiensis*.

A partir da análise do dendrograma (Figura 4), pode-se observar que as bactérias que estão no primeiro agrupamento apresentam ampla variedade de toxinas, mas cada bactéria evoluiu para produção específica de determinada toxina. Essas toxinas com motivos semelhantes aos das toxinas Cry parecem ser o principal modelo de toxina adotado por essas espécies, exceto para *P. larvae*. Essa característica de produção de toxina em associação com as particularidades bioquímicas e moleculares

ajudam a explicar as especificidades de infecção dessas bactérias, como, por exemplo, *P. larvae*, que é o agente patogênico para abelhas. Já *P. popilliae* e *P. lentimorbus* são patógenos obrigatórios de larvas de escarabeídeos e, fora do hospedeiro, são encontrados apenas na forma de esporos (Lacey et al., 2015). Já *L. sphaericus* possui um aparato de toxinas efetivas para o controle de larvas de várias espécies da ordem Diptera. Dessa forma, observa-se que, nesse grupo, são identificadas bactérias que apresentam potencial tóxico contra uma ordem específica de insetos.

As bactérias *S. entomophila*, *S. proteamaculans*, *P. luminescens*, *P. entomophila* e *C. subtsugae* estão no segundo agrupamento. Nesse grupo, são descritas as toxinas Tc, Sep e Pyr. Em *C. subtsugae*, o mecanismo de infecção não é totalmente esclarecido.

As espécies desse agrupamento produzem um espectro de toxinas mais semelhantes, ou seja, são complexos de toxina Tc e Sep. Os genes *sep* (*sepA*, *sepB* e *sepC*) são detectados nos plasmídeos de espécies, tais como *S. proteamaculans*, *Serratia liquefaciens* e *Yersinia frederiksenii*, sugerindo que eles são parte de uma região de mobilidade horizontal de plasmídios entre espécies. As proteínas Sep são similares às proteínas Tc (do complexo de toxinas) de *P. luminescens* (Hurst et al., 2003). As toxinas Tc são codificadas em ilhas de patogenicidade que são encontradas no genoma de *P. luminescens*, por exemplo. Nesse grupo de bactérias, observa-se que uma mesma bactéria possui um espectro maior de hospedeiros, como, por exemplo, *C. subtsugae*, que tem como insetos-alvo espécies encontradas nas ordens Coleoptera, Diptera, Hemiptera e Lepidoptera.

No terceiro agrupamento, foi identificado apenas *B. thuringiensis*. Nessa espécie, são identificadas uma ampla faixa de toxinas, tais como Cry, Cyt, Vip, Sip e Tc.

Nas análises de vários artigos relacionados ao sequenciamento do genoma de Bt, é possível identificar várias categorias de toxinas que envolvem Cry, Cyt, Vip, Sip e Tc. Dessa forma, *B. thuringiensis* desenvolveu um mecanismo de infecção que envolve amplo espectro de toxinas, que torna essa espécie um agente microbiano de elevado potencial para o controle de várias ordens de insetos, como Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Himenoptera e Lepidoptera. Em razão dessa grande capacidade de produção de toxinas, percebe-se que Bt desenvolveu mecanismos mais amplos de infecção, os quais, provavelmente, ajudam a explicar sua capacidade saprofítica e revelar seu potencial biotecnológico seja para uso direto como bioinseticida seja como fonte de genes para o desenvolvimento de plantas transgênicas. E mesmo em função da evolução da resistência às toxinas Cry, *B. thuringiensis* revela seu potencial para utilização de outros genes cujo modo de ação é diferente do das toxinas Cry, permitindo o uso racional de mais de uma estratégia de biocontrole.

RESISTÊNCIA DE INSETOS A BIOINSETICIDAS Bt

Como as estirpes de *B. thuringiensis* produzem diferentes toxinas com diferentes modos de ação, acreditava-se que havia poucas possibilidades de seleção de insetos resistentes. Entretanto, em 1990, no Havaí, foi relatada a ocorrência de populações de *P. xylostella* resistentes, quando expostas a aplicações contínuas de produtos comerciais, em comparação com as populações de campo (Tabashnik et al., 1990). Desde então foram relatados casos de resistência a bioinseticidas Bt em Honduras, Guatemala, Costa Rica, Nicarágua, México e Brasil (Castelo Branco; Gatehouse, 1997; Perez et al., 1997; Perez; Shelton, 1997; Cartin et al., 1999; Díaz-Gomez et al., 2000; Monnerat et al., 2015, Soberón et al., 2016).

No Brasil, o primeiro caso relatado ocorreu com *P. xylostella* nos anos de 1996 e 1997, na região do Distrito Federal, onde foi observado que a CL_{50} do produto comercial à base de *B. thuringiensis kurstaki* foi 36 vezes maior que na população suscetível (Castelo Branco; Gatehouse, 1997). Posteriormente, a resistência foi documentada também em cultivos localizados nas regiões Sudeste e Sul (Ribeiro, 2010; Zago et al., 2014). Ribeiro (2010) atribuiu a resistência a vários mecanismos, desde alterações nos receptores de membrana até processos que levaram à ativação ou não da toxina. Zago et al. (2014) observaram diferenças na oviposição em superfícies tratadas e não tratadas com o produto Dipel WP, sugerindo uma resposta comportamental entre as colônias resistentes ao bioinseticida.

Os mecanismos de resistência dessas populações não foram totalmente elucidados, mas foi determinado que a resistência de *P. xylostella* a Bt é autossômica, recessiva e controlada aparentemente por um ou poucos loci (Tabashnik et al., 1990, 1993). Trabalhos posteriores identificaram que o gene da resistência está ligado à baixa afinidade das toxinas aos receptores presentes no intestino dos insetos (Baxter et al., 2011; Tabashnik et al., 2011).

É importante que as empresas provedoras das tecnologias, a extensão rural, os produtores, a comunidade científica e os governos dos países produtores se unam para estabelecer diretrizes que possibilitem melhor manejo das tecnologias Bt, pois qualquer tecnologia sem a integração com outras práticas pode se tornar ineficiente.

REFERÊNCIAS

ABDULLAH, M. A. F.; VALAITIS, A. P.; DEAN, D. H. Identification of a *Bacillus thuringiensis* Cry11ba toxin-binding aminopeptidase from mosquito *Anopheles quadrimaculatus*. **BMC Biochemistry**, v. 7, art. number 16, p. 1-6, 2006.

- AGUIAR, R. W. de S.; MARTINS, E. S.; RIBEIRO, B. M.; PONTES, R. G. M. S. de. Cry10Aa protein is highly toxic to *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae), an important insect pest in Brazilian cotton crop fields. **Bt Research**, v. 3, n. 4, p. 20-28, July 2012. DOI: 10.5376/bt.2012.03.0004.
- BARLOY, F.; DELÉCLUSE, A.; NICOLAS, L.; LECADET, M. Cloning and expression of the first anaerobic toxin gene from *Clostridium bifermentans* subsp. *malaysia*, encoding a new mosquitocidal protein with homologies to *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxins. **Journal of Bacteriology**, v. 178, n. 11, p. 3099-3105, 1996. DOI: 10.1128/jb.178.11.3099-3105.
- BAXTER, S. W.; BADENES-PEREZ, F. R.; MORRISON, A.; VOGEL, H; CRICKMORE, N.; KAIN, W.; WANG, P.; HECKEL, D. G.; JIGGINS, C. D. Parallel evolution of Bt toxin resistance in Lepidoptera. **Genetics**, v. 189, n. 2, p. 675-679, 2011. DOI: 10.1534/genetics.111.130971.
- BERRY, C. The bacterium, *Lysinibacillus sphaericus*, as an insect pathogen. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 109, n. 1, 1-10, Jan. 2012. DOI: 10.1016/j.jip.2011.11.008.
- BOWEN, D. J.; ENSIGN, J. C. Purification and characterization of a high molecular weight insecticidal protein complex produced by the entomopathogenic bacterium *Photobacterium luminescens*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, n. 8, p. 3029-3035, Aug. 1998.
- BRAVO, A.; GILL, S. S.; SOBERON, M. *Bacillus thuringiensis* mechanisms and use. In: GILBERT, L. I.; IATROU, K.; GILL, S. S. (Ed.). **Comprehensive molecular insect science**. New York: Elsevier, 2005. v. 6, p. 175-206.
- BRAVO, A.; GILL, S. S.; SOBERÓN, M. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. **Toxicon**, v. 49, n. 4, p. 423-435, Mar. 2007. DOI: 10.1016/j.toxicon.2006.11.022.
- BRAVO, A.; GÓMEZ, I.; CONDE, J.; MUÑOZ-GARAY, C.; SÁNCHEZ, J.; MIRANDA, R.; ZHUANG, M.; GILL, S. S.; SOBERÓN, M. Oligomerization triggers binding of a *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab pore-forming toxin to aminopeptidase N receptor leading to insertion into membrane microdomains. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA): Biomembranes**, v. 1667, n. 1, p. 38-46, Nov. 2004. DOI: 10.1016/j.bbamem.2004.08.013.
- BRAVO, A.; LIKITVIVATANAVONG, S.; GILL, S. S.; SOBERÓN, M. *Bacillus thuringiensis*: a story of a successful bioinsecticide. **Insect Biochemistry**, v. 41, n. 7, p. 423-431, July 2011. DOI: 10.1016/j.ibmb.2011.02.006.
- BRAVO, A.; MARTÍNEZ DE CASTRO, D. L.; SÁNCHEZ, J.; CANTÓN, P. E.; MENDOZA, G.; GÓMEZ, I.; SOBERÓN, M. Mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal toxins and their use in the control of insect pests. In: ALOUF, J.; LADANT, D.; POPOFF, M. R. **The comprehensive sourcebook of bacterial protein toxins**. Amsterdam: Elsevier, 2015. p. 858-873.
- BRAVO, A.; SARABIA, S.; LOPEZ, L.; ONTIVEROS, H.; ABARCA, C.; ORTIZ, A.; ORTIZ, M.; LINA, L.; VILLALOBOS, F. J.; PENA, G.; NUNEZ-VALDEZ, M. E.; SOBERÓN, M.; QUINTERO, R. Characterization of cry genes in mexican *Bacillus thuringiensis* strain collection. **Applied Environmental Microbiology**, v. 64, n. 12, p. 4965-4972, 1998.
- BTNOMENCLATURE. Disponível em: <<http://www.btnomenclature.info/>>. Acesso em: 23 mar. 2019.
- CARRAMASCHI, I. N.; PEREIRA, L. A.; BAIA, V. S.; MALLETT, J. R. M.; QUEIROZ, M. M. C.; ZAHNER, V. Laboratory evaluation of *Brevibacillus laterosporus* strains as biocidal agents against *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae) larvae. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 146, p. 69-72, June 2017. DOI: /10.1016/j.jip.2017.04.009.
- CARTÍN, L.; CARAZO, R.; LOBO, S.; MONGE, V.; ARAYA, R. Resistance by *Plutella xylostella* to *Bacillus thuringiensis* in Costa Rica. **Jornal Manejo Integrado de Pragas**, v. 54, p. 31-36, 1999.
- CASTELO BRANCO, M.; GATEHOUSE, A. G. Insecticide resistance in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) in the Federal District, Brazil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 26, n. 1, p. 75-79, Apr. 1997. DOI: 10.1590/S0301-80591997000100010.

- CHEN, J.; BROWN, M. R.; HUA, G.; ADANG, M. J. Comparison of the localization of *Bacillus thuringiensis* Cry1A δ -endotoxin and their binding proteins in larval midgut of tobacco hornworm, *Manduca sexta*. **Cell and Tissue Research**, v. 321, n. 1, p. 123-129, July 2005. DOI: 10.1007/s00441-005-1124-6.
- CHEN, W.-J.; SCHNEIDER, D. S.; HSIEH, F.-C.; HSU, F.-C.; TASY, Y.-F.; LIU, J.-R.; SHIN, M.-C.; DAVID, S. Characterization of an insecticidal toxin and pathogenicity of *Pseudomonas taiwanensis* against insects. **PLoS Pathogens**, v. 10, n. 8, p. e1004288, Aug. 2014. DOI: 10.1371/journal.ppat.1004288.
- CRICKMORE, N.; ZEIGLER, D. R.; FEITELSON, J.; SCHNEPF, E.; VAN RIE, J.; LERECLUS, D.; BAUM, J.; DEAN, D. H. Revision of the nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal proteins. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 62, n. 3, p. 807-813, 1998.
- CRICKMORE, N.; ZEIGLER, D. R.; SCHNEPF, E.; VAN RIE, J.; LERECLUS, D.; BAUM, J.; BRAVO, A.; DEAN, D. H. ***Bacillus thuringiensis* toxin nomenclature**. Disponível em: <http://www.lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil_Crickmore/Bt/intro.html>. Acesso em: 2 May 2018.
- DAMGAARD, P. H.; SMITS, P. H.; HANSEN, B. M.; PEDERSEN, J. C.; EILENBERG, J. Natural occurrence of *Bacillus thuringiensis* on grass and cabbage foliage. **IOBC/WPRS Bulletin**, v. 17, p. 262-266, 1994.
- DE BARJAC, H.; VERON, M.; COSMAO DURNANOIR, V. Caracterisation biochimique et krogologique des souches de *Bacillus sphaericus* pathogènes ou non pour les rnoustiques. **Annales de Microbiologie (Institut Pasteur)**, v. 131B, p. 191-201, 1980.
- DE MAAGD, R. A.; BRAVO, A.; CRICKMORE, N. How *Bacillus thuringiensis* has evolved specific toxins to colonize the insect world. **Trends in Genetics**, v. 17, n. 4, p. 193-199, Apr. 2003. DOI: 10.1016/S0168-9525(01)02237-5.
- DENOLF, P.; HENDRICKX, K.; VANDAMME, J.; JANSSENS, S.; PEFERDEN, M.; DEGHEELE, D.; VAN RIE, J. Cloning and characterization of *Manduca sexta* and *Plutella xylostela* midgut aminopeptidase N enzymes related to *Bacillus thuringiensis* toxin-binding proteins. **FEBS**, v. 248, n. 3, p. 748-761, 1997. DOI: 10.1111/j.1432-1033.1997.t01-1-00748.x.
- DÍAZ-GOMEZ, O.; RODRÍGUEZ, J. C.; SHELTON, A. M.; LAGUNES, A.; BUJANOS, R. Susceptibility of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) populations in Mexico to commercial formulations of *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Economic Entomology**, v. 93, n. 3, p. 963-970, 2000. DOI: 10.1603/0022-0493-93.3.963.
- DIEPPOIS, G.; DUCRET, V.; CAILLE, O.; PERRON, K. The transcriptional regulator CzcR modulates antibiotic resistance and quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. **PLoS ONE**, v. 7, n. 5, p. e38148, 2012. DOI: 10.1371/journal.pone.0038148.
- DINGMAN, D. W. DNA fingerprinting of *Paenibacillus popilliae* and *Paenibacillus lentimorbus* using PCR-amplified 16S-23S rDNA intergenic transcribed spacer (ITS) regions. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 100, 1, p. 16-21, Jan. 2009. DOI: 10.1016/j.jip.2008.09.006.
- DONOVAN, W. P.; ENGLEMAN, J.; DONOVAN, J.; BAUM, J.; BUNKERS, G.; CHI, D.; CLINTON, W.; ENGLISH, L.; HECK, G.; ILAGAN, O.; KRASOMI-OSTERFELD, C.; PITKIN, J.; ROBERTS, J.; WALTERS, M. Discovery And Characterization of Sip1a: a novel secreted protein from *Bacillus thuringiensis* with activity against Coleopteran larvae. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 72, n. 4, p. 713-719, Feb. 2006. DOI: 10.1007/s00253-006-0332-7.
- DULMAGE, H. T. Insecticidal activity of HD-1, a new isolate of *Bacillus thuringiensis* var. *alesti*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 15, n. 2, p. 232-239, Mar. 1970. DOI: 10.1016/0022-2011(70)90240-5.
- ESTRUCH, J. J.; WARREN, G. W.; MULLINS, M. A.; NYE, G. J.; GRAIG, J. A.; KOZIEL, M. G. Vip3a, a novel *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein with a wide spectrum of activities against lepidopteran insects. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**: (PNAS), v. 93, n. 11, p. 5389-5394, May 1996. DOI: 10.1073/pnas.93.11.5389.

- EVDOKIMOV, A. G.; MOSHIRI, F.; STURMAN, E. J.; RYDEL, T. J.; ZHENG, M.; SEALE, J. W.; FRANKLIN, S. Structure of the full-length insecticidal protein Cry1ac reveals intriguing details of toxin packaging into in vivo formed crystals. **Protein Science**, v. 23, p. 1491-1497, Aug. 2014. DOI: 10.1002/pro.2536.
- FERNANDEZ, L. E.; AIMANOVA, K. G.; GILL, S. S.; BRAVO, A.; SOBERÓN, M. A Gpi-anchored alkaline phosphatase is a functional midgut receptor of Cry1aa toxin in *Aedes aegypti* larvae. **The Biochemical Journal**, v. 394, n. 1, p. 77-84, 2006. DOI: 10.1042/BJ20051517.
- FFRENCH-CONSTANT, R. H.; DOWLING, A.; WATERFIELD, N. R. Insecticidal toxins from *Photorhabdus bacteria* and their potential use in agriculture. **Toxicon**, v. 49, n. 4, p. 436-451, Mar. 2007. DOI: 10.1016/j.toxicon.2006.11.019.
- FFRENCH-CONSTANT, R.; WATERFIELD, N.; DABORN, P.; JOYCE, S.; BENNETT, H.; AU, C.; DOWLING, A.; BOUNDY, S.; REYNOLDS, S.; CLARKE, D. *Photorhabdus*: towards a functional genomic analysis of a symbiont and pathogen. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 26, p. 433-456, Jan. 2003. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2003.tb00625.x.
- GILL, M.; ELLAR, D. Transgenic *Drosophila* reveals a functional in vivo receptor for the *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ac1. **Insect Molecular Biology**, v. 11, p. 619-625, 2002. DOI: 10.1046/j.1365-2583.2002.00373.x.
- GILL, S. S.; COWLES, E. A.; FRANCIS, V. Identification, isolation, and cloning of a *Bacillus thuringiensis* Cry1ac toxin-binding protein from the midgut of the lepidopteran insect *Heliothis virescens*. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 270, n. 45, p. 27277-27282, 1995.
- GOLDBERG, L. J.; MARGALIT, J. A bacterial spore demonstrating rapid larvicidal activity against *Anopheles sergenti*, *Uranotaenia unguiculata*, *Culex univittatus*, *Aedes aegypti*, and *Culex pipiens*. **Mosquito News**, v. 37, p. 355-358, Sept. 1977.
- GOMEZ, I.; PARDO-LOPEZ, L.; MUNOZ-GARAY, C.; FERNANDEZ, L. E.; PEREZ, C.; SANCHEZ, J.; SOBERON, M.; BRAVO, A. Role of receptor interaction in the mode of action of insecticidal Cry and Cyt toxins produced by *Bacillus thuringiensis*. **Peptides**, v. 28, n. 1, p. 169-173, Jan. 2007. DOI: 10.1016/j.peptides.2006.06.013.
- GÓMEZ, I.; SÁNCHEZ, J.; MIRANDA, R.; BRAVO, A.; SOBERÓN, M. Cadherin-like receptor binding facilitates proteolytic cleavage of helix a-1 in domain I and oligomer pre-pore formation of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin. **FEBS Letters**, v. 513, p. 242-246, Feb. 2002. DOI: 10.1016/S0014-5793(02)02321-9.
- GÓMEZ, I.; SANCHEZ, J.; MUNOZ-GARAY, C.; MATUS, V.; GILL, S. S.; SOBERON, M.; BRAVO, A. *Bacillus thuringiensis* Cry1a toxins are versatile-proteins with multiple modes of action: two distinct pre-pores are involved in toxicity. **The Biochemical Journal**, v. 459, n. 2, p. 383-396, Apr. 2014. DOI: 10.1042/BJ20131408.
- GÓMEZ-GARZÓN, C.; HERNÁNDEZ-SANTANA, A.; DUSSÁN, J. A genome-scale metabolic reconstruction of *Lysinibacillus sphaericus* unveils unexploited biotechnological potentials. **PLOS One**, v. 12, n. 6, p. e0179666, 2017.
- HARRISON, H.; PATEL, R.; YOUSSTEN, A. A. *Paenibacillus* associated with Milky disease in Central and South American Scarabs. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 76, n. 3, p. 169-175, Oct. 2000. DOI: 10.1006/jipa.2000.4969.
- HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, C. S.; BOETS, A.; VAN RIE, J.; FERRÉ, J. Screening and identification of vip genes in *Bacillus thuringiensis* strains. **Journal of Applied Microbiology**, v. 107, p. 219-225, June 2009. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2009.04199.x.
- HURST, M. R.; BEATTIE, A.; JONES, S. A.; LAUGRAUD, A.; KOTEN, C.; HARPER, L. *Serratia proteamaculans* strain AGR96X encoding an anti-feeding prophage (tailocin) with activity against grass grub (*Costelytra giveni*) and Manuka Beetle (*Pyronota* spp.) larvae. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 84, n. 10, pii: e02739-17, May 2018. DOI: 10.1128/AEM.02739-17.

- HURST, M. R.; O'CALLAGHAN, M.; GLARE, T. R. Peripheral sequences of the *Serratia entomophila* pADAP virulence-associated region. **Plasmid**, v. 50, n. p. 213-229, Nov. 2003. DOI: 10.1016/S0147-619X(03)00062-3.
- IBARRA, J. E.; DEL RINCON, M. C.; ORDÚZ, S.; NORIEGA, D.; BENINTENDE, G.; MONNERAT, R.; REGIS, L.; DE OLIVEIRA, C. M. F.; LANZ, H.; RODRIGUEZ, M. H.; SÁNCHEZ, J.; PENA, G.; BRAVO, A. Diversity of *Bacillus Thuringiensis* strains from Latin America with insecticidal activity against different mosquitoes species. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 9, p. 5269-5274, 2003. DOI: 10.1128/AEM.69.9.5269-5274.2003.
- JIMÉNEZ-JUÁREZ A, MUÑOZ-GARAY C, GÓMEZ I, SAAB-RINCON G, DAMIAN-ALAMAZO JY, GILL SS, SOBERÓN M, BRAVO A. *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab mutants affecting oligomer formation are non-toxic to *Manduca sexta* larvae. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 282, p. 21222-21229, 2007.
- JONES, G. W.; NIELSEN-LEROUX, C.; YANG, Y.; YUAN, Z.; DUMAS, V. F.; MONNERAT, R. G.; BERRY, C. A new Cry toxin with a unique two-component dependency from *Bacillus sphaericus*. **FASEB Journal**, v. 21, n. 14, p. 4112-4120, Jul. 2007. DOI: 10.1096/fj.07-8913com.
- KNIGHT, P. J.; CRICKMORE, N.; ELLAR, D. J. The receptor for *Bacillus thuringiensis* CryIA(c) delta-endotoxin in the brush border membrane of the lepidopteran *Manduca sexta* is aminopeptidase N. **Molecular Microbiology**, v. 11, n. 3, p. 429-436, 1994. DOI: 10.1111/j.1365-2958.1994.tb00324.x.
- KRIEG, A.; HUGER, A. M.; LANGENBRUCH, G. A.; SCHNETTER, W. *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis*: ein neuer, gegenüber larven von Coleopteren wirksamer pathotyp. **Journal of Applied Entomology**, v. 96, p. 500-508, 1983. DOI: 10.1111/j.1439-0418.1983.tb03704.x.
- LACEY, L. A. (Ed.). **Microbial control of insect and mite pests: from theory to practice**. London: Academic Press, 2017.
- LACEY, L. A.; GRZYWACZ, D.; SHAPIRO-ILAN, D. I.; FRUTOS, R.; BROWNBRIDGE, M.; GOETTEL, M. S. Insect pathogens as biological control agents: back to the future. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 132, p. 1-41, Nov. 2015. DOI: 10.1016/j.jip.2015.07.009.
- LI, C.; XU, N.; HUANG, X.; WANG, W.; CHENG, J.; WU, K.; SHEN, Z. *Bacillus thuringiensis* Vip3 mutant proteins: insecticidal activity and trypsin sensitivity. **Biocontrol Science and Technology**, v. 17, p. 699-708, 2007. DOI: 10.1080/09583150701527177.
- LUO, K.; LU, Y.-J.; ADANG, M. J. A 106 kDa from of aminopeptidase is a receptor for *Bacillus thuringiensis* CryIC delta-endotoxin in the brush border membrane of *Manduca sexta*. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 26, p. 783-791, Sep.-Oct. 1996. DOI: 10.1016/S0965-1748(96)00027-6.
- LUO, K.; SANGADALA, S.; MASSON, L.; MAZZA, A.; BROUSSEAU, R.; ADANG, M. J.; LUO, K. The *Heliothis virescens* 170 kDa aminopeptidase functions as "Receptor A" by mediating specific *Bacillus thuringiensis* Cry1a delta-endotoxin binding and pore formation. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 27, p. 735-743, Aug. 1997. DOI: /10.1016/S0965-1748(97)00052-0.
- MACINTOSH, S. C.; STONE, T. B.; SIMS, S. R.; HUNST, P. L.; GREENPLATE, J. T.; MARRONE, P. G.; PERLAK, F. J.; FISCHHOFF, D. A.; FUCHS, R. L. Specificity and efficacy of purified *Bacillus thuringiensis* proteins against agronomically important insects. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 56, n. 2, p. 258-266, Sept. 1990. DOI: 10.1016/0022-2011(90)90109-J.
- MARCHE, M. G.; MURA, M. E.; RUIU, L. *Brevibacillus laterosporus* inside the insect body: beneficial resident or pathogenic outsider? **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 137, p. 58-61, June 2016. DOI: 10.1016/j.jip.2016.05.002.
- MARTIN, P. A. W.; GUNDERSEN-RINDAL, D.; BLACKBURN, M.; BUYER, J. *Chromobacterium subtsugae* sp. nov., a betaproteobacterium toxic to Colorado potato beetle and other insect pests. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 57, p. 993-999, 2007. DOI: 10.1099/ijs.0.64611-0.
- MARTINS, E. S.; AGUIAR, R. W. D. S.; MARTINS, N. F.; MELATTI, V. M.; FALCÃO, R.; GOMES, A. C. M. M.; RIBEIRO, B. M.; MONNERAT, R. G. Recombinant Cry1Ia protein is highly toxic to cotton boll weevil

- (*Anthonomus grandis* Boheman) and fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*). **Journal of Applied Microbiology**, v. 104, p. 1363-1371, Jan. 2008. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2007.03665.x.
- MARTINS, E. S.; PRAÇA, L. B.; DUMAS, V. F.; SILVA-WERNECK, J. O. S.; SONE, E. H.; WAGA, I. C.; COLIN, B.; MONNERAT, R. G. Characterization of *Bacillus thuringiensis* isolates toxic to cotton boll weevil (*Anthonomus grandis*). **Biological Control**, v. 40, n. 1, p. 65-68, 2007. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2006.09.009.
- MEHLO, L.; GAHAKWA, D.; NGHIA, P. T.; LOC, N. T.; CAPELL, T.; GATEHOUSE, J. A.; GATEHOUSE, A. M.; CHRISTOU, P. An alternative strategy for sustainable pest resistance in genetically enhanced crops. **Proceedings of the National Academy of Sciences, USA**, v. 102, n. 22, p. 7812-7816, 2005. DOI: 0.1073/pnas.0502871102.
- MONNERAT, R. G.; BATISTA, A. C.; MEDEIROS, P. T.; MARTINS, E.; MELATTI, V.; PRAÇA, L.; DUMAS, V.; DEMO, C.; GOMES, A. C.; FALCÃO, R.; BERRY, C. Characterization of Brazilian *Bacillus Thuringiensis* strains active against *Spodoptera frugiperda*, *Plutella xylostella* and *Anticarsia gemmatalis*. **Biological Control**, v. 41, p. 291-295, 2007.
- MONNERAT, R.; DIAS, D. S.; SILVA, S. F. da; MARTINS, E. S.; BERRY, C.; FALCÃO, R.; GOMES, A. C. M.; PRAÇA, L. B.; SOARES, C. M. S. Screening of *Bacillus thuringiensis* strains effective against mosquitoes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, p. 103-1006, Feb. 2005. DOI: 10.1590/S0100-204X2005000200001.
- MONNERAT, R.; MARTINS, E.; MACEDO, C.; QUEIROZ, P.; PRAÇA, L.; SOARES, C. M.; MOREIRA, H.; GRISI, I.; SILVA, J.; SOBERON, M.; BRAVO, A. Evidence of field-evolved resistance of *Spodoptera frugiperda* to Bt corn expressing Cry1F in Brazil that is still sensitive to modified bt toxins. **PLoS One**, v. 10, p. e0119544, Apr. 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0119544.
- MONNERAT, R.; SILVA, S.; DIAS, D.; MARTINS, É.; PRAÇA, L.; JONES, G.; SOARES, C.; DIAS, J.; BERRY, C. Screening of Brazilian *Bacillus sphaericus* strains for high toxicity against *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti*. **Journal of Applied Entomology**, v. 128, p. 469-473, July 2004. DOI: 10.1111/j.1439-0418.2004.00874.x.
- OHBA, M.; MIZUKI, E.; UEMORI, A. Parasporin, a new anticancer protein group from *Bacillus thuringiensis*. **Anticancer Research**, v. 29, p. 427-433, 2009.
- OLIVEIRA, E. J.; RABINOVITCH, L.; MONNERAT, R. G.; PASSOS, L. K.; ZAHNER, V. Molecular characterization of *Brevibacillus laterosporus* and its potential use in biological control. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, p. 6657-6664, 2004. DOI: 10.1128/AEM.70.11.6657-6664.
- OLTEAN, D. I.; PULLIKUTH, A. K.; LEE, H.-K.; GILL, S. S. Partial purification and characterization of *Bacillus thuringiensis* Cry1A toxin receptor a from *Heliothis virescens* and cloning of the corresponding cDNA. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, p. 4760-4766, 1999.
- ORLOVA, M. V.; SMIRNOVA, T. A.; GANUSHKINA, L. A.; YACUBOVICH, V. Y.; AZIZBEKYAN, R. R. Insecticidal activity of *Bacillus laterosporus*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, p. 2723-2725, 1998.
- PALMA, L.; HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, C. S.; MAEZTU, M.; HERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, P.; RUIZ DE ESCUDERO, I.; ESCRICHE, B.; MUÑOZ, D.; VAN RIE, J.; FERRÉ, J.; CABALLERO, P. Vip3C, a novel class of vegetative insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, p. 7163-7165, 2012.
- PALMA, L.; MUÑOZ, D.; BERRY, C.; MURILLO, J.; CABALLERO, P. *Bacillus thuringiensis* toxins: an overview of their biocidal activity. **Toxins**, v. 6, n. 12, p. 3296-3325, 2014. DOI: 10.3390/toxins6123296.
- PARDO-LÓPEZ, L.; SOBERÓN, M.; BRAVO, A. *Bacillus thuringiensis* insecticidal three-domain Cry toxins: mode of action, insect resistance and consequences for crop protection. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 37, p. 3-22, Jan. 2013. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2012.00341.x.
- PEREZ, C. J.; SHELTON, A. M. Resistance of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) to *Bacillus thuringiensis* Berliner in Central America. **Journal of Economic Entomology**, v. 90, n. 1, p. 87-93, Feb. 1997. DOI: 10.1093/jee/90.1.87.

PEREZ, C. J.; SHELTON, A. M.; ROUSH, R. T. Managing diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) resistance to foliar applications of *Bacillus thuringiensis*: testing strategies in field cages. **Journal of Economic Entomology**, v. 90, n. 6, p. 1462-70, Dec. 1997. DOI: 10.1093/jee/90.6.1462.

PETTERSSON, B.; RIPPERE, K. E.; YOUSSTEN, A. A.; PRIEST, F. G. Transfer of *Bacillus lentimorbus* and *Bacillus popilliae* to the genus *Paenibacillus* with emended descriptions of *Paenibacillus lentimorbus* comb. nov. and *Paenibacillus popilliae* comb. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 49, p. 531-540, Apr. 1999.

QURESHI, N.; CHAWLA, S.; LIKITVIVATANAVONG, S.; LEE, H. L.; GILLA, S. S. The cry toxin operon of *Clostridium bifermentans* subsp. *malaysia* is highly toxic to *Aedes* larval mosquitoes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, n. 18, p. 5689-5697, 2014. DOI: 10.1128/AEM.01139-14.

RADDADI, N.; CHERIF, A.; BOUDABOUS, A.; DAFFONCHIO, D. Screening of plant growth promoting traits of *Bacillus thuringiensis*. **Annals of Microbiology**, v. 58, n. 1, p. 47- 52, 2008.

RADDADI, N.; CHERIF, A.; OUZARI, H.; MARZORATI, M.; BRUSETTI, L.; BOUDABOUS, A.; DAFFONCHIO, D. *Bacillus thuringiensis* beyond insect biocontrol: plant growth promotion and biosafety of polyvalent strains. **Annals of Microbiology**, v. 57, p. 481-494, Dec. 2007.

RIBEIRO, L. M. da S. **Respostas imunológicas e mecânicas em população suscetível e resistente *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) frente a formulações comerciais à base de *Bacillus thuringiensis* Berliner**. 2010. 76 f. Dissertação (Pós-Graduação em Entomologia Agrícola) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

RODOU, A.; ANKRAH, D. O.; STATHOPOULOS, C. Toxins and secretion systems of *Photorhabdus luminescens*. **Toxins**, v. 2, p. 1250-1264, 2010. DOI: 10.3390/toxins2061250.

RUIU, L. *Brevibacillus laterosporus*, a pathogen of invertebrates and a broad-spectrum antimicrobial species. **Insects**, v. 4, n. 3, p. 476-492, 2013. DOI: 10.3390/insects4030476.

RUIU, L. Insect pathogenic bacteria in integrated pest management. **Insects**, v. 6, n. 2, p. 52-367, 2015. DOI: 10.3390/insects6020352.

SANGADALA, S.; WALTERS, F. S.; ENGLISH, L. H.; ADANG, M. J. A mixture of *Manduca sexta* aminopeptidase and phosphatase enhances *Bacillus thuringiensis* insecticidal Cry_{IA}(C) toxin binding and 86rb(+)-K+ efflux in vitro. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 269, n. 13, p. 10088-10092, 1994.

SHIDA, O.; TAKAGI, H.; KADOWAKI, K.; KOMAGATA, K. Proposal for two new genera, *Brevibacillus* gen. nov. and *Aneurinobacillus* gen. nov. **International Journal of Systematics Bacteriology**, v. 46, p. 939-946, 1996.

SINGH, P. K.; LILES, M. R.; CHITTPURNA, V.; ASHISH, P. B.; SHARMA, S.; PATIL, S.; KORPOLE, S. Identification, purification and characterization of Laterosporulin, a novel bacteriocin produced by *Brevibacillus* sp. strain GI-9. **PLoS ONE**, v. 7, n. 3, p. e31498, Mar. 2012. DOI: 0.1371/journal.pone.0031498.

SOBERÓN, M.; MONNERAT, R.; BRAVO, A. Mode of action of cry toxins from *Bacillus thuringiensis* and resistance mechanisms. In: GOPALAKRISHNAKONE, P.; STILES, B.; ALAPE-GIRÓN, A.; DUBREUIL, J.; MANDAL, M. (Ed.). **Microbial toxins: toxinology**. Netherlands: Springer, 2016. p. 1-13.

TABASHNIK, B. E.; CUSHING, N. L.; FINSON, N.; JOHNSON, M. W. Field development of resistance to *Bacillus thuringiensis* in Diamondback moth (Lep.: Plutellidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 83, p. 1671-1676, Oct. 1990. DOI: 10.1093/jee/83.5.1671.

TABASHNIK, B. E.; FINSON, N.; JOHNSON, M. W.; MOAR, W. J. Resistance to toxins from *Bacillus thuringiensis* subs. *aizawai* in the Diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, p. 1332-1335, 1993.

TABASHNIK, B. E.; HUANG, F.; GHIMIRE, M. N.; LEONARD, B. R.; SIEGFRIED, B. D.; RANGASAMY, M.; YANG, Y.; WU, Y.; GAHAN, L. J.; HECKEL, D. G.; BRAVO, A.; SOBERÓN, M. Efficacy of genetically modified bt toxins against insects with different mechanisms of resistance. **Nature Biotechnology**, v. 29, p. 1128-1131, 2011.

- TABASHNIK, B. E.; ZHANG, M.; FABRICK, J. A.; WU, Y.; GAO, M.; HUANG, F.; WEI, J.; ZHANG, J.; YELICH, A.; UNNITHAN, G. C.; BRAVO, A.; SOBERON, M.; CARRIERE, Y.; LI, X. Dual mode of action of bt proteins: protoxin efficacy against resistant insects. **Scientific Reports**, v. 5, p. 15107, 2015.
- VADLAMUDI, R. K.; WEBER, E.; JI, I.; JI, T. H.; BULLA JR, L. A. Cloning and expression of a receptor for an insecticidal toxin of *Bacillus thuringiensis*. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 270, p. 5490-5494, 1995.
- VALAITIS, A. P.; JENKINS, J. L.; LEE, M. K.; DEAN, D. H.; GARNER, K. J. Isolation and partial characterization of gypsy moth Btr-270, an anionic brush border membrane glycoconjugate that binds *Bacillus thuringiensis* Cry1a toxins with high affinity. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 46, n. 4, p. 186-200, 2001. DOI: 10.1002/arch.1028.
- VALLET-GELY, I.; OPOTA, O.; BONIFACE, A.; NOVIKOV, A.; LEMAITRE, B. A secondary metabolite acting as a signalling molecule controls *Pseudomonas entomophila* virulence. **Cellular Microbiology**, v. 12, n. 11, p. 1666-1679, 2010. DOI: 10.1111/j.1462-5822.2010.01501.x.
- VODOVAR, N.; VALLENET, D.; CRUVEILLER, S.; ROUY, Z.; BARBE, V.; ACOSTA, C.; CATTOLICO, L.; JUBIN, C.; LAJUS, A.; SEGURENS, B.; VACHERIE, B.; WINCKER, P.; WEISSENBAACH, J.; LEMAITRE, B.; MÉDIGUE, C.; BOCCARD, F. Complete genome sequence of the entomopathogenic and metabolically versatile soil bacterium *Pseudomonas entomophila*. **Nature Biotechnology**, v. 24, n. 6, p. 673, 2006.
- WATERFIELD, N.; DABORN, P. J.; FFRENCH-CONSTANT, R. H. Genomic islands in *Photographus*. **Trends in Microbiology**, v. 10, p. 541-554, 2002. DOI: 10.1016/S0966-842X(02)02463-0.
- WEISER, J. Impact of *Bacillus thuringiensis* on applied entomology in Eastern Europe and in Soviet Union. In: KRIEG, A.; HUGER, A. M. **Mitteilungen aus der biologischen bundesanstalt für land und forstwirtschaft**. Berlin: Dahlem Heft, 1986. p. 37-50.
- YAOI, K.; KADOTANI, T.; KUWANA, H.; SHINKAWA, A.; TAKAHASHI, T.; IWAHANA, H.; SATO, R. Aminopeptidase N from *Bombyx mori* as a candidate for the receptor of *Bacillus thuringiensis* Cry1Aa toxin. **European Journal of Biochemistry**, v. 246, n. 3, p. 652-657, 1997. DOI: 10.1111/j.1432-1033.1997.t01-1-00652.x.
- YOKOYAMA, T.; TANAKA, M.; HASEGAWA, M. Novel cry gene from *Paenibacillus lentimorbus* strain *Semadara* inhibits ingestion and promotes insecticidal activity in *Anomala cuprea* larvae. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 85, p. 25-32, 2004. DOI: 10.1016/j.jip.2003.12.009.
- ZAGO, H. B.; HERBERT, A. A. S.; PEREIRA, E. J. G.; PICANÇO, M. C.; BARROS, R. Resistance and behavioural response of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) populations to *Bacillus thuringiensis* formulations. **Pest Management Science**, v. 70, p. 488-495, June 2014. DOI: 10.1002/ps.3600.
- ZHANG, J.; HODGMAN, T. C.; KRIEGER, L.; SCHNETTER, W.; SCHAIRER, H. U. Cloning and analysis of the first Cry gene from *Bacillus popilliae*. **Journal of Bacteriology**, v. 179, n. 13, p. 4336-4341, 1997. DOI: 10.1128/jb.179.13.4336-4341.
- ZHANG, X.; CANDAS, M.; GRIKO, N. B.; TAUSSIG, R.; BULLA JR.; L. A. A mechanism of cell death involving an adenylyl cyclase/PKA signaling pathway is induced by the Cry1Ab toxin of *Bacillus thuringiensis*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, p. 9897-9902, June 2006. DOI: 10.1073/pnas.0604017103.
- ZUBASHEVA, M. V.; GANUSHKINA, L. A.; SMIRNOVA, T. A.; AZIZBEKYAN, R. R. Larvicidal activity of crystal forming strains of *Brevibacillus laterosporus*. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 46, n. 8, p. 755-762, Dec. 2010.

CAPÍTULO 7

Controle de artrópodes-praga com fungos entomopatogênicos

Maria Cleria Valadares-Inglis
Rogerio Biaggioni Lopes
Marcos Rodrigues de Faria

Os fungos entomopatogênicos são espécies capazes de causar doenças ou a morte de insetos. Em uma definição mais abrangente, considera-se que os fungos entomopatogênicos também infectam outros artrópodes, como aqueles da classe Arachnida (ácaros, carrapatos e aranhas). Há também os fungos que estabelecem relações neutras ou mesmo positivas com artrópodes, os quais são denominados, juntamente com os entomopatogênicos, como fungos de invertebrados.

No presente capítulo, será apresentada uma revisão atualizada sobre fungos com potencial de uso no controle de artrópodes-praga, suas características biológicas e ecológicas, classificação taxonômica e nomenclatura, os mecanismos de ação e comportamento, as vantagens e limitações e alguns exemplos de programas de controle biológico com o uso de fungos.

CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS E ECOLÓGICAS

O conhecimento sobre as doenças que atacam insetos não é recente. Séculos atrás, egípcios e chineses já observavam e mitigavam algumas das doenças de insetos em criações de abelhas e bicho-da-seda. Contudo, em 1835, o italiano Agostino

Bassi relatou pela primeira vez o caso de um microrganismo como agente causal de doença em insetos. Seus estudos, que demonstraram a natureza infecciosa e a transmissão de um patógeno entre larvas do bicho-da-seda, foram feitos com um fungo, mais tarde denominado *Beauveria bassiana*. Alguns anos depois, entre 1878 e 1888, os russos Metchnikoff e Klassiltchik foram os primeiros cientistas a sugerir a aplicação do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* como agente de controle microbiano de pragas. A partir de então, entre as mais de 700 espécies entomopatogênicas conhecidas, diversos fungos de invertebrados vêm sendo desenvolvidos para uso em programas de controle de pragas.

Os fungos são organismos eucarióticos, cujas paredes celulares contêm quitina e/ou celulose e glucanas. São heterotróficos, mas a forma de obtenção de nutrientes é bastante variável, indo da saprotrofia (extração de nutrientes da matéria orgânica em decomposição) à associação com organismos vivos. Enquanto os fungos não filamentosos (= leveduras) são unicelulares, sem a formação de estruturas tubulares (chamadas de hifas), a maioria daqueles associados aos invertebrados crescem na forma filamentosa, ou seja, produzem hifas que, quando agrupadas, recebem a denominação de micélio. Salvo raras exceções, as células fúngicas são desprovidas de flagelos ou outras estruturas propulsoras. Consequentemente, sua dispersão é favorecida por fatores ambientais, como vento e chuva, ou por transmissão via outros agentes e organismos presentes no ambiente. Alguns fungos entomopatogênicos também podem se dispersar de maneira ativa, por ejeção de seus esporos no ar.

Características ecológicas e interações com artrópodes

Do ponto de vista antropocêntrico, a maioria das espécies de fungos associada a artrópodes é benéfica, uma vez que tais organismos podem ser utilizados como agentes de controle de pragas. Por causa de seu peculiar modo de ação, muitos fungos são capazes de infectar invertebrados e causar sua morte em diferentes estágios de seu desenvolvimento e com os mais diversos hábitos de vida. A típica infecção do hospedeiro via tegumento permite, por exemplo, seu emprego contra fases de desenvolvimento da praga que não se alimentam, como ovos e pupas. Importantes pragas em várias culturas, como os pulgões (*Aphididae*), moscas-brancas (*Aleurodicinae*), tripses (*Terebrantia*), cochonilhas (*Dactilopidae*) e ácaros (*Acari*), apresentam aparelho bucal do tipo perfurador-sugador, o qual é introduzido em células ou tecidos de plantas hospedeiras e suga a seiva vegetal. Apesar da possibilidade de alguns microrganismos com ação endofítica atuarem contra insetos sugadores, esse tipo de alimentação reduz grandemente a possibilidade de ingestão de microrganismos que causam infecção por ingestão, como bactérias e vírus, mas não impede a colonização pelos fungos.

Cabe ressaltar que nem toda interação fungo-artrópode traz benefício ao homem. A ocorrência de doenças fúngicas em insetos úteis, como abelhas, bicho-da-seda e inimigos naturais de pragas, pode afetar diretamente a sobrevivência desses insetos e a produção de itens de interesse. Em relação aos inimigos naturais, tanto os patógenos de artrópodes quanto os predadores e parasitoides podem contribuir para a redução de populações de organismos-praga. Em um contexto de interações multitróficas, entomopatógenos e outros inimigos naturais podem interagir de forma sinérgica, aditiva ou antagônica, como no caso de parasitismo/infecção e competição. Os efeitos negativos das interações de fungos entomopatogênicos e inimigos naturais devem ser evitados, enquanto os efeitos positivos da dispersão dos entomopatógenos devem ser valorizados, uma vez que os inimigos naturais podem aumentar a dispersão dos fungos, principalmente em condições de cultivo em casas de vegetação. Por exemplo, em ensaios em casa de vegetação conduzidos por Messelink e Ingegno (2016), afídeos infectados com *M. anisopliae* não foram consumidos pelo predador *Cheilomenes lunata* (Fabricius) (Coleoptera: Coccinellidae), mesmo se ofertados como única fonte de alimento. Além disso, observou-se que *C. lunata* evitou cadáveres de afídeos com esporulação do fungo. Para patógenos, a interação positiva é ilustrada pela dispersão de esporos assexuados (conídios) do fungo para outros afídeos durante a busca de alimentos por *C. lunata* (Bayissa et al., 2016). Essa forma de dispersão inspirou uma nova estratégia de liberação de agentes de controle biológico de pragas, denominada *entomovectoring*, inicialmente descrita por Hokkanen e Menzler-Hokkanen (2007), a qual vem sendo desenvolvida para o controle de várias pragas, principalmente em cultivos protegidos. Essa tecnologia envolve o uso de diferentes espécies de insetos como vetores para a disseminação de esporos de fungos ou outros microrganismos, usualmente na forma de pó. Estudos recentes têm analisado o potencial de uso de abelhas como carreadoras de esporos, a determinação de doses, os tipos de formulações dos agentes entomopatogênicos e as alterações comportamentais dos entomovetores (Mommaerts; Smagghe, 2011; Smagghe et al., 2012, 2013; Karise et al., 2016).

Características ecológicas e interações com o ambiente

Os fungos entomopatogênicos, exceto se devidamente formulados, requerem condições ambientais de elevada umidade relativa, temperaturas moderadas e proteção contra a radiação solar, a fim de que germinem e, conseqüentemente, causem doenças nos hospedeiros suscetíveis. As condições de microclima encontradas na superfície das plantas e nos corpos dos insetos-praga são fundamentais para o estabelecimento da infecção. Ressalta-se que regiões do corpo do inseto, como boca,

ânus e orifícios respiratórios, possuem microambiente úmido, propícios à entrada e ao início da infecção, podendo influenciar positivamente a eficiência do patógeno. A manutenção das condições de umidade após a aplicação do fungo entomopatogênico parece ser fundamental para sua eficiência. Experimentos conduzidos em laboratório por Mukawa et al. (2011) com *B. bassiana* mostraram que, para o controle do tripes *Frankliniella occidentalis* (Pergande), a condição climática ótima deve ser mantida por até 2 dias após a aplicação de conídios.

Quando aplicados no ambiente, os fungos podem sofrer danos abióticos que comprometem sua eficiência. O principal deles é causado pela exposição à radiação UV (ultravioleta), que tem efeito na germinação de esporos, bem como na sobrevivência, reprodução, dispersão e virulência dos fungos. A sensibilidade e a tolerância de fungos entomopatogênicos à radiação UV têm sido extensivamente estudadas em *Metarhizium anisopliae*, *M. acridum*, *B. bassiana* e *Isaria fumosorosea* e apresentam grande variação mesmo entre linhagens de uma mesma espécie. Em alguns casos, mesmo a exposição por apenas 30 segundos é capaz de reduzir consideravelmente a germinação desses fungos.

Estudos moleculares têm contribuído para a identificação de proteínas presentes em conídios e no micélio, em resposta às condições de estresses abióticos. As *heat shock proteins* (HSP) e as proteínas envolvidas em reações de detoxicação e biossíntese de pigmentos encontradas em fungos entomopatogênicos estão relacionadas a respostas à tolerância a estresse ambiental (Wang et al., 2013). Além das proteínas, outros mecanismos como o acúmulo de carotenoides e outros pigmentos em conídios, bem como alguns metabólitos secundários, contribuem para a tolerância à radiação solar. Esses mecanismos são complexos e envolvem várias interações e diversos sistemas fisiológicos e moleculares relacionados à sobrevivência dos fungos. Os efeitos fisiológicos e moleculares da irradiação UV ambiental em conídios de fungos são descritos em revisão de Braga et al. (2015), que aborda as alterações da estrutura de conídios, os tipos de danos causados pela radiação em nível molecular e os mecanismos de proteção contra esses danos. A seleção de linhagens tolerantes à radiação UV pode auxiliar no desenvolvimento de biopesticidas, buscando linhagens adaptadas a regiões geográficas de acordo com a intensidade da radiação. Uma forma de proteção parcial dos conídios contra a radiação solar é feita por meio de formulações, incluindo aquelas à base de óleo puro ou emulsionável, uma vez que essas substâncias reduzem a transmitância em função da maior absorbância da radiação UV.

Nas últimas décadas, foi descrita a interação endofítica de fungos entomopatogênicos com plantas, na qual os fungos são observados colonizando raízes e outras partes das plantas, sem sintomas ou danos físicos aparentes. Linhagens de *B. bassiana* são reportadas como endofíticas em diversas culturas, como banana

(*Musa*), feijão (*Phaseolus*), cacau (*Theobroma cacao*), algodão (*Gossypium*), tomate (*Solanum lycopersicum*), mandioca (*Manihot esculenta*), sorgo (*Sorghum*), arroz (*Oryza sativa*), cebola (*Allium cepa*), milho (*Zea mays*) e café (*Coffea*). Em 2002, Hu e St. Leger, ao utilizarem linhagens de *Metarhizium robertsii* marcadas com proteína fluorescente, mostraram a habilidade desse fungo de colonizar raízes e tecidos de repolho. Estudos acerca da ocorrência e da persistência de entomopatógenos endofíticos, principalmente *Metarhizium* e *Beauveria*, têm demonstrado que a persistência decresce com a idade do inóculo do fungo e que algumas linhagens endofíticas apresentam efeito negativo sobre insetos herbívoros. Vale ressaltar que essas interações dependem do isolado e da espécie de planta hospedeira. Em alguns casos, tem sido observada a transmissão vertical do fungo, a exemplo de *B. bassiana* endofítica transmitida por sementes de *Pinus radiata*, que causa efeito negativo em insetos que se alimentam da planta (Lefort et al., 2016). Esses fungos podem apresentar outros efeitos benéficos, atuando, por exemplo, como promotores de crescimento.

Segurança para a saúde humana e animal

Uma das grandes preocupações com relação ao uso de fungos para o controle de artrópodes-praga concentra-se na capacidade que eles têm de produzir toxinas que possam causar danos aos mamíferos. Destruxinas, efraeptinas, oosporinas e outros peptídeos tóxicos são conhecidos como metabólitos produzidos por fungos, como *M. anisopliae*, *Tolypocladium* spp., *Beauveria brongniartii* e *B. bassiana*. Existe grande variação entre as espécies produtoras de metabólitos tóxicos, e as toxinas produzidas in vivo são geralmente em quantidades muito inferiores às obtidas quando esses organismos são produzidos em meio artificial (Strasser et al., 2000). Outro fator relevante é o fato de os micopesticidas utilizarem estruturas fúngicas, como conídios e blastósporos formulados sem o meio de cultura, normalmente como pós-molháveis ou misturados com óleos. A presença desses metabólitos em micoinseticidas comerciais não deve ser considerada como risco para a saúde humana e animal, uma vez que seus níveis não são altos o suficiente para causarem danos ao ambiente e aos humanos. Por sua vez, são necessários estudos adicionais para situações que envolvam a produção de preparações fúngicas nas propriedades rurais, em que o meio de cultura líquido colonizado por estruturas do patógeno seja também aplicado nas lavouras.

Os fungos entomopatogênicos não atacam plantas e, raramente, são encontrados relatos de ataques a mamíferos ou outros vertebrados. Recentemente, Nourisson et al. (2017) revisaram 19 casos de infecções humanas causadas por fungos do gênero *Metarhizium*. As infecções oculares e não oculares observadas parecem não ter correlação com imunossupressividade, mas somente pacientes imunossupressivos

apresentaram lesões com casos comprovados de infecção. Em dez desses casos, foi possível identificar as espécies de fungos envolvidas: *M. robertsii*, *Metarhizium pingshaense*, *Metarhizium brunneum* e *Metarhizium guizhouense*. Esta última espécie contribuiu, junto com outros fatores, para a única morte registrada de um paciente imunodeficiente. As linhagens de *Metarhizium* estudadas apresentaram alta resistência aos fungicidas itraconazole e anfotericina B e baixa resistência a voriconazole. As infecções humanas com fungos entomopatogênicos são raras e a complexidade na identificação precisa de espécies e linhagens desses agentes de controle de artrópodes pode resultar em diagnósticos de infecções inespecíficas. Em coelhos, testes de toxicidade dermatológica aguda com *I. fumosorosea* não mostraram nenhum sinal de doença nesses animais, não apresentando alterações de peso e reação inflamatória na derme exposta a uma dose de 2 g/kg do animal (Brunner-Mendoza et al., 2017).

Apesar de a maioria dos fungos usados como agentes de controle biológico ser segura para seres humanos, o aumento da exposição de trabalhadores em biofábricas e operários rurais pode afetar seu sistema imune. Algumas reações alérgicas estão relacionadas a agentes de biocontrole dos gêneros *Beauveria* (Westwood et al., 2005, 2006), *Metarhizium* (Ward et al., 2011) e *Isaria* (Beezhold et al., 2008), sendo diretamente ligadas à produção de imunoglobulina E. As respostas e os sintomas da exposição a diferentes espécies de fungos ainda não são claros e parecem estar relacionados a condições preexistentes de ataques asmáticos (Baxi et al., 2016), condições essas não restritas ou relacionadas diretamente aos fungos entomopatogênicos.

O incremento na produção de fungos e o aumento da oferta de biopesticidas têm levado as agências reguladoras a estabelecer protocolos de segurança para o registro de produtos comerciais. De modo geral, os produtos comerciais precisam fornecer as seguintes informações: identificação do agente, descrição das propriedades biológicas (histórico, ocorrência natural e distribuição geográfica, espectro de hospedeiros, modo de ação, produção de metabólitos/toxinas, efeito no ambiente); conhecimento sobre o destino e o comportamento no ambiente (mobilidade e persistência no ar, água e solo); efeitos sobre organismos não alvo (microrganismos, plantas, organismos do solo, aquáticos, predadores, parasitoides, abelhas, etc.); efeitos sobre vertebrados (peixes, anfíbios, répteis e pássaros); e efeitos sobre mamíferos e sobre a saúde humana (alergia, patogenicidade/toxicidade) (Zimmermann, 2007). A legislação ligada ao registro de biopesticidas e as exigências quanto à sua toxicidade e periculosidade ambiental variam entre os diferentes países. No Brasil, o registro de biopesticidas é regulado pela Lei nº 7.802, de julho de 1989 (Brasil, 1989), pelo Decreto nº 4.074, de janeiro de 2002 (Brasil, 2002), e por suas normas infralegais, incluindo muitos dos aspectos mencionados anteriormente.

MECANISMOS DE AÇÃO

Ao contrário do que ocorre com outros microrganismos que precisam ser ingeridos, o processo de infecção por fungos entomopatogênicos se dá por contato. Inicia-se com a adesão de estruturas fúngicas à superfície do hospedeiro suscetível, seguida por germinação, penetração e colonização interna (Figura 1).

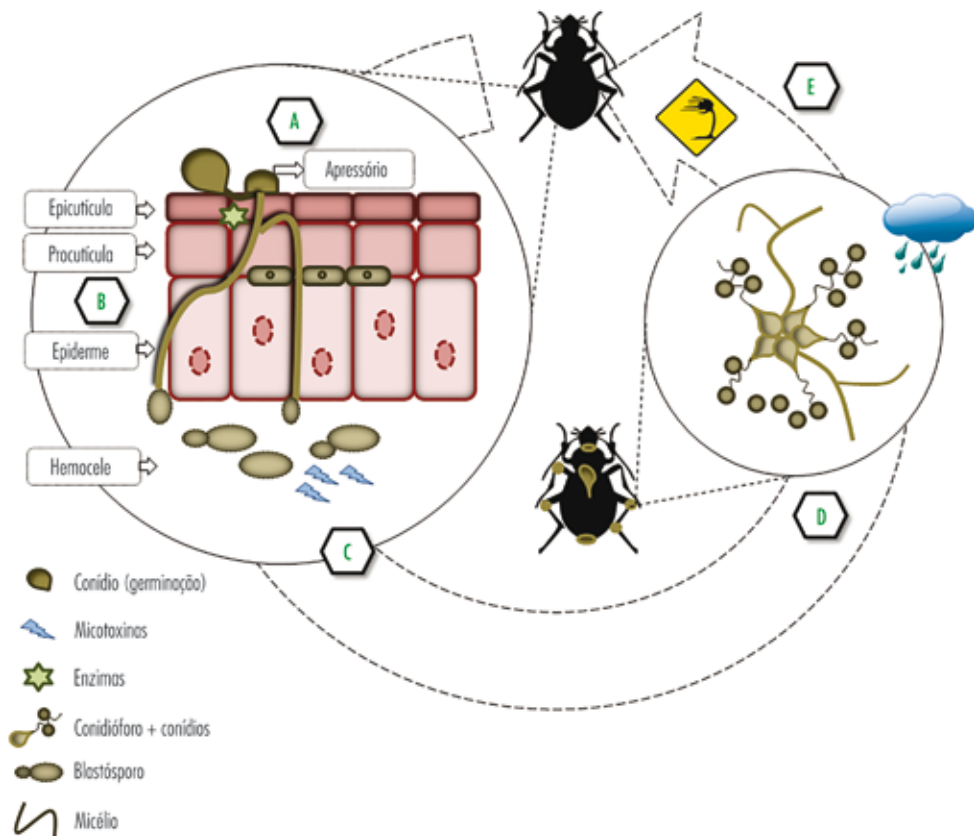


Figura 1. Colonização de hospedeiro por ascomiceto com ciclo de vida assexuado: adesão e germinação (A); penetração (B); colonização (C); reprodução (D); e disseminação (E).

Ilustração: Rogério Biaggioni Lopes

Adesão e penetração

A ação dos propágulos infectivos é um processo dinâmico que envolve interações eletrostáticas e hidrofóbicas. Conídios de muitas espécies da ordem Hypocreales, como *B. bassiana* e *M. anisopliae*, possuem uma camada de revestimento formada por proteínas denominadas hidrofobinas. Duas delas (Hyd1 e Hyd2), encontradas

em *B. bassiana*, são responsáveis pela hidrofobicidade da parede celular, contribuindo para adesão e virulência. Além das hidrofobinas, as adesinas são conhecidas como importantes proteínas envolvidas no processo de adesão à cutícula dos insetos. Em *M. anisopliae*, pelo menos uma das adesinas (Mad1) foi identificada (Wang; St. Leger, 2007). Em alguns casos, a capacidade de adesão de conídios à cutícula parece estar relacionada ao tipo e ao tamanho das cadeias de hidrocarbonos presentes nela. Substâncias mucilaginosas produzidas na formação dos conídios podem ser determinantes no processo de adesão deles à superfície do hospedeiro, como no caso de *Lecanicillium* e *Hirsutella*.

A germinação e o crescimento do fungo na superfície e a subsequente penetração dependem das condições ambientais favoráveis, da especificidade de hospedeiro, do elevado vigor dos propágulos fúngicos, entre outros fatores. Conídios debilitados, caracterizados por lenta germinação, são menos virulentos que os conídios vigorosos (Faria et al., 2015).

Após a germinação, a penetração do fungo na cutícula de insetos ocorre preferencialmente nas regiões cuticulares menos esclerotizadas, como é o caso das regiões intersegmentares. Em alguns casos, a pressão mecânica envolve a formação de estruturas especializadas denominadas apressórios, os quais são formados a partir dos tubos germinativos. A estrutura penetrante entra diretamente na cutícula, formando estruturas fusiformes denominadas hifas, que se estendem lateralmente entre as camadas da endocutícula.

O processo de penetração é complexo, uma vez que as cutículas são estruturas altamente heterogêneas, que variam em composição de acordo com a espécie e ao longo dos diferentes estágios de desenvolvimento dos insetos, bem como com o tipo de dieta que eles têm, entre outros fatores. A epicutícula, camada mais superficial, é rica em lipídios, tornando-se uma barreira hidrofóbica para a penetração do fungo. A procutícula, camada inferior à epicutícula, é rica em quitina e proteínas esclerotizadas, constituindo barreira adicional à penetração. A camada epidermal reveste as estruturas internas dos insetos.

Inúmeros estudos vêm sendo conduzidos para elucidar o complexo enzimático produzido por fungos e seus mecanismos de ação em diferentes espécies de insetos. Assim, além das estruturas penetrantes desenvolvidas, os fungos produzem e secretam enzimas catabólicas e extracelulares que parecem estar envolvidas no processo de infecção. Endoproteases, quitinases, lipases, celulases, β -galactosidades, peptidases e outras enzimas são relatadas em diversos fungos, como *M. anisopliae*, *B. bassiana*, *Isaria* sp. e espécies de Entomophthorales. Essas enzimas são responsá-

veis pela degradação da cutícula do inseto e ajudam no processo de penetração por pressão mecânica.

Uma vez que a epicutícula de insetos é composta de misturas de lipídios, alcanos de cadeias longas, ésteres e ácidos graxos, as lipases atuam por meio da hidrólise das ligações ésteres das lipoproteínas, gorduras e ceras. As lipases atuam na primeira etapa, ou seja, na adesão dos propágulos à cutícula e na penetração da epicutícula, uma vez que a quebra dos lipídios ocorre concomitantemente com a penetração. As enzimas lipolíticas potencializam a adesão dos esporos às cutículas dos hospedeiros por meio da liberação de ácidos graxos que aumentam a hidrofobicidade e favorecem a adesão (Ali et al., 2010). O complexo de enzimas lipolíticas é amplo e as enzimas estão envolvidas em diferentes reações, o que torna difícil o mapeamento e a interpretação precisa do sistema enzima-artrópode. Mais recentemente, com o uso de ferramentas moleculares, como o sequenciamento genômico de cDNA, tem sido possível melhorar a identificação dos sistemas e das famílias de lipases produzidas por fungos entomopatogênicos.

Proteínas são componentes das cutículas de insetos, e as proteases são importantes no processo de penetração. Estas últimas fazem parte de um grande grupo de enzimas hidrolíticas capazes de degradar as ligações peptídicas, resultando em pequenos peptídeos e/ou aminoácidos. Os fungos entomopatogênicos produzem grande variedade de proteases, tais como: subtilisina Pr1 serina-protease, protease extracelular BBP, tripsina do tipo Pr2 serina-protease, cisteína-endoprotease, metalo-proteinase, carboxipeptidase, esterase, aminopeptidase e prolil-dipeptidil peptidase. Estudos envolvendo a produção e os mecanismos de ação dessas proteases são fundamentais para a compreensão das interações entre os fungos e seus hospedeiros. De modo geral, essas enzimas são produzidas em condições de privação de nutrientes e reprimidas quando há excesso, sendo também inibidas por condições ambientais, principalmente relacionadas aos níveis de pH (St. Leger et al., 1992). Recentemente, Javar et al. (2015) utilizaram PCR quantitativo em tempo real e identificaram genes de *M. anisopliae* expressos durante o processo de infecção da lagarta *Spodoptera exigua* (Hübner). Esse trabalho permitiu mostrar que o gene *Pr1* (subtilisin-like protease) começa a ser expresso após 2 horas de infecção, aumentando os níveis de expressão subsequentemente.

A cutícula dos insetos e ácaros contém quitina, que é um polímero de cadeia longa, constituído de resíduos de N-acetilglucosamina. O tamanho da cadeia pode variar entre organismos, e, em muitos casos, a quitina está associada a matrizes de carbonato de cálcio, fosfatos e proteínas. Esse processo leva em média de 3 a 14 dias após a infecção, dependendo de fatores como espécie de fungo e hospedeiro e dosagem do patógeno. Além de estar presente na cutícula dos artrópodes, a quitina

é parte componente da membrana ou matriz peritrófica do intestino médio dos hospedeiros, sendo formada basicamente por fibras de quitina e proteínas. A matriz peritrófica é essencial para a sobrevivência, protegendo contra infecções orais por vários organismos patogênicos, entre os quais estão os nucleopoliedrovírus e as toxinas de *Bacillus thuringiensis*. A degradação por fungos da quitina na cutícula ocorre pela ação sinérgica e consecutiva de um complexo enzimático que hidrolisa a quitina em monômeros de N-acetilglucosamina.

As enzimas que digerem quitina (quitinases, endoquitinases, exoquitinases e quitobiasas) são encontradas em fungos entomopatogênicos. Visto que a quitina constitui um componente da parede celular de fungos, incluindo os entomopatogênicos, o complexo de quitinases apresenta funções diversas, tanto na degradação da parede celular dos fungos quanto da cutícula dos hospedeiros. Duo-Chuan (2006) apresenta uma revisão de quitinases produzidas por fungos, incluindo nomenclatura, ensaios, purificação, caracterização, clonagem, expressão, famílias e estruturas, bem como genes e mecanismos de regulação. Técnicas moleculares vêm sendo empregadas para a obtenção de linhagens recombinantes, a fim de reduzir o tempo de mortalidade dos insetos e permitir a compreensão das funções do complexo enzimático no processo de penetração e colonização de hospedeiros (Sánchez-Pérez et al., 2014). Essas técnicas, associadas ao sequenciamento genômico e às análises de transcriptoma, têm permitido avanços no conhecimento das enzimas expressas no processo infeccioso. Javar et al. (2015), por exemplo, utilizaram técnicas de PCR quantitativo em tempo real e detectaram dois tipos de quitinases (CHI2 e CHI3) 12 horas após a infecção e durante a emergência do micélio após a morte do hospedeiro.

Algumas outras enzimas são produzidas por fungos entomopatogênicos, entre as quais se destacam as espécies reativas ao oxigênio (ROS – do inglês *reactive oxygen species*), que estão envolvidas na proteção de conídios no ambiente, atuando como resposta à radiação ultravioleta e ao calor, e as catalases e peroxidases, que também estão envolvidas nos mecanismos de proteção dos conídios e na proteção contra produtos citotóxicos dos hospedeiros.

Colonização de artrópodes e metabólitos tóxicos

Uma vez dentro dos insetos ou ácaros, os fungos passam da fase de hifas para corpos hifais (= blastósporos), disseminando-se na cavidade interna do corpo por meio da hemolinfa. Posteriormente, após extensiva replicação, o fungo retorna à fase de hifas e invade tecidos musculares, corpos gordurosos, tubos de Malpighi, entre outros órgãos. Após a exaustão de nutrientes e morte do hospedeiro, as hifas penetram a cutícula do interior para o exterior, emergindo na superfície corporal

externa e, sob condições ambientais favoráveis, iniciam a última fase do ciclo de vida do fungo (reprodução) com a formação de esporos.

Muitos fungos produzem metabólitos tóxicos com efeito sobre artrópodes. Esses metabólitos são conhecidos como peptídeos não ribossomais (NRP – do inglês *nonribosomal peptides*), policéticos, derivados de lisina, terpenoides e esteróis. Os principais NRP são os seguintes: destruxinas, efrapeptinas, beauvericina, bassianolides e ciclosporinas. As destruxinas A e B, que são estruturas cíclicas compostas de alfa-hidroxiácido e cinco resíduos de aminoácidos, foram identificadas em 1960, em isolados do gênero *Metarhizium*. Desde então, mais de 38 destruxinas foram relatadas (Kleinkauf; Döhren, 1987, 1990; Gupta et al., 1989, 1991; Turner, 2000). Diversas variantes das destruxinas estão documentadas, das quais três (A, B e E) são reportadas como responsáveis pela paralisia muscular aguda em insetos. Meng et al. (2013) demonstraram que essas toxinas causam efeitos nos canais de cálcio das membranas celulares, na inibição da atividade de ATPase vacuolar, na alteração da regulação do estresse oxidativo, além de efeito deletério na expressão de proteínas do disco das asas causando desenvolvimento anormal.

As efrapeptinas constituem um complexo de peptídeos tóxicos e foram inicialmente descritas por Gupta et al. (1992) no fungo *Tolypocladium* spp. Apresentam atividade inibitória de ATPases, regulam o gradiente de prótons no intestino médio de insetos e afetam seu sistema imune.

Inicialmente isolada de *B. bassiana* e *Lecanicillium* sp. por Suzuki et al. (1977), a beauvericina é parte do grupo dos ciclodepsipeptídeos. Atua no equilíbrio iônico e no pH das camadas de lipídios, resultando em danos à membrana celular dos hospedeiros. A toxina bassianolide, um octadepsipeptídeo também isolado de *B. bassiana* e *Lecanicillium* sp. por Suzuki et al. (1977), possui estrutura semelhante à beauvericina e é conhecida por induzir atonia muscular aguda em insetos, estando, portanto, associada à virulência. O bassianolide é encontrado comercialmente como produto químico com atividade inseticida e nematocida, que atua nos canais iônicos da junção neuromuscular, apesar de os mecanismos de ação dos bassianolides ainda não serem completamente conhecidos.

Inicialmente isoladas do fungo entomopatogênico *T. inflatum* na década de 1970, as ciclosporinas constituem outro grupo de NRP. Esse peptídeo atua como imunossupressor, sendo amplamente utilizado na indústria médica em tratamento de pacientes transplantados. Estudos recentes mostram a existência de outros mecanismos de ação, incluindo a redução da atividade de peptídeos antimicrobianos (Bushley et al., 2013).

Entre os peptídeos tóxicos policéticos, estão descritas a oosporina e a bassianina, ambas isoladas de *B. bassiana*. Esses peptídeos foram estudados por Vining et al. (1962), McInnes et al. (1974) e Strasser et al. (2000). A oosporina atua como inibidor do sistema de defesa dos insetos e a bassianina inibe as atividades de ATPases.

Além das toxinas mencionadas, podem ainda ser encontrados os peptídeos tóxicos derivados de lisina, como o *swainsonine*, que tem sido bastante estudado em *M. anisopliae*, e o ácido dipicolínico, encontrado em *Beauveria*, *Isaria* e *Lecanicillium*. Terpenoides e esteroides são observados em fungos entomopatogênicos, incluindo os terpenoides de *Aschersonia paraphysata* com potencial de controlar a malária (Isaka et al., 2010). Outros metabólitos, como tolipina, dicetopiperazinas, hirsutelina A e B, ergosterol peroxidase e torrubiellina B, foram também descritos em fungos entomopatogênicos, muitos dos quais são utilizados comercialmente (Singh et al., 2016).

O potencial de uso de fungos entomopatogênicos, tanto como biopesticidas quanto como fornecedores de metabólitos de interesse para a indústria médico-farmacêutica, ainda tem vasto campo a ser explorado.

Mecanismos de defesa de insetos e ácaros

Os mecanismos de defesa dos artrópodes contra infecções por microrganismos patogênicos são complexos e parecem envolver processos evolutivos com adaptação comportamental, produção e secreção de compostos capazes de inibir o crescimento e o desenvolvimento dos patógenos, bem como a capacidade de mudar a cutícula durante o desenvolvimento. Por sua vez, a pressão de seleção é recíproca, havendo a seleção de linhagens mais virulentas, capazes de superar as barreiras dos hospedeiros e as defesas internas.

As cutículas dos artrópodes são barreiras físicas e químicas contra infecções causadas por microrganismos. Na infecção causada pelos fungos, a adesão e a penetração da cutícula pelo patógeno são fundamentais para o processo. Essa etapa pode ser inibida por meio da melanização da cutícula, que é ativada pelas β -1,3-glucanas presentes na parede celular de fungos. As β -1,3-glucanas ativam as profenoloxidasas (enzimas que catalisam a oxidação de fenóis, resultando em melanina) dos insetos, e alguns fungos entomopatogênicos parecem possuir a capacidade de suprimir ou inativar a defesa celular dos insetos suscetíveis. O sistema imunológico de artrópodes da classe Arachnida, que inclui ácaros, carrapatos e aranhas, é menos estudado. Sabe-se que alguns carrapatos não possuem o sistema de profenoloxidase que resulte em melanização.

Ácidos graxos, componentes das cutículas de insetos, principalmente os poli-insaturados, apresentam forte atividade antifúngica, e a atividade antimicrobiana parece

dependem do tamanho da cadeia e da presença de ligações insaturadas. Apesar de ocorrerem em baixas concentrações, os ácidos graxos apresentam atividade contra fungos. A combinação de ácidos graxos saturados de cadeia longa, abundantes na cutícula e nos extratos internos da mosca *Sarcophaga carnaria*, com ácidos graxos poli-insaturados está envolvida na proteção contra infecção causada por fungos (Gołębiowski et al., 2014). A quantidade de ácidos graxos varia (de traços a 44% dos componentes da cutícula) entre diferentes espécies, e essas diferenças estão relacionadas à resistência e à suscetibilidade dos insetos a patógenos (Gołębiowski et al., 2008).

Alguns insetos secretam substâncias químicas, entre as quais estão alguns aldeídos, que atuam como feromônios e/ou cariomônios e agem na atração de pares ou na atração de parasitoides, no caso dos cariomônios. Algumas das substâncias químicas encontradas nos feromônios de insetos apresentam efeito fungistático, que inibe fungos entomopatogênicos (Borges et al., 1993, Sosa-Gomez et al., 1997; Lopes et al., 2015; Ulrich et al., 2015).

Outros mecanismos de defesa dos insetos envolvem a secreção de lactona B, um éster cíclico que é responsável pela inibição da atividade lipolítica do fungo, impedindo o processo infeccioso. Em alguns insetos, os lipídios cuticulares apresentam efeito tóxico e inibitório de germinação de conídios, como, por exemplo, os lipídios de mosca-branca, que inibem a germinação de *B. bassiana* (James et al., 2003), e as longas cadeias de ácidos graxos, que inibem *I. fumosorosea* e *B. bassiana*. Outros compostos também previnem a infecção, como os ácidos amídicos presentes em cutícula do psocoptero *Liposcelis bostrychophila* Badonnel, que atuam na prevenção à adesão de conídios de *B. bassiana*, *I. fumosorosea*, *Aspergillus parasiticus* e *M. anisopliae* (Lord; Howard, 2004).

Após atravessar a barreira cuticular dos artrópodes, os fungos são combatidos por meio de respostas celulares e humorais, que começam com o reconhecimento de moléculas e receptores, os quais são denominados de padrões moleculares associados a patógenos. Esses padrões envolvem as β -1,3-glucanas da parede celular do fungo, que são reconhecidas durante a penetração e, posteriormente, quando o patógeno atinge a cavidade interna do hospedeiro. Essa barreira de reconhecimento pode ser evitada pelo fungo pela perda da parede celular, quando o fungo cresce na hemocele do hospedeiro na forma de corpos hifais ou protoplastos. Os protoplastos de fungos sobrevivem na hemolinfa dos insetos e, embora possam persistir, geralmente não são capazes de se desenvolver e causar infecções (Lastra et al., 2001). Artrópodes infectados podem apresentar mudanças na composição de lipídios na hemolinfa, com acúmulo de solutos e aumento da pressão osmótica. Estudos envolvendo expressão de genes mostraram que a proteína colagenosa é altamente expressa em insetos infectados. A proteína MCL1 (semelhante ao colágeno) parece funcionar como uma camada pro-

tetora antiadesiva, que evitaria a fagocitose e a encapsulação das estruturas do fungo, cuja carga negativa evitaria a atração de hemócitos, mascarando as β -1,3-glucanas da parede celular dos fungos (Wang; St. Leger, 2006).

Algumas espécies de artrópodes eliminam os patógenos ou atrasam a progressão da doença através de febre comportamental, quando a maior exposição à radiação solar funciona como um mecanismo de termorregulação e de inativação microbiana pela irradiação UV, limitando ou mesmo inibindo o crescimento de patógenos presentes na cutícula. A ocorrência de febres em insetos infectados por organismos entomopatogênicos já foi observada, por exemplo, em gafanhotos e coleópteros infectados com *Metarhizium* e na mosca doméstica infectada com *Entomophthora muscae*. A febre comportamental pode induzir mudanças comportamentais como busca por locais mais altos (Roy et al., 2006).

Insetos sociais apresentam comportamentos específicos de resposta a contaminações. Limpezas pelos companheiros de ninho ou limpeza própria minimizam os danos causados por microrganismos patogênicos. Os cupins apresentam comportamento de limpeza mútua para eliminação de esporos de fungos, como *B. bassiana* e *M. anisopliae* (Shimizu; Yamaji, 2003; Yanagawa et al., 2008), e apresentam também resposta a compostos voláteis produzidos pelos organismos patogênicos detectados pelas antenas (Yanagawa et al., 2009, 2012).

CLASSIFICAÇÃO TAXONÔMICA E NOMENCLATURA

Até o final do século passado, o reconhecimento de espécies fúngicas baseava-se preponderantemente em características morfológicas, e as observações a olho nu e microscópicas eram suficientes para a identificação. Caracteres como cor de colônias, tamanho e forma dos conídios e características das estruturas que dão suporte aos conídios (conidióforos ou células conidiogênicas) eram as mais empregadas nessa abordagem, embora informações sobre hospedeiro e biogeografia fossem relevantes em muitos casos. Na última edição do consagrado livro *Controle Microbiano de Insetos* (Alves, 1998), por exemplo, o grupo de fungos entomopatogênicos que incluía a maioria das espécies de uso comercial era chamado de Deuteromicetos, assim agrupados pela inexistência ou desconhecimento de uma fase sexuada. Nos últimos anos, estudos que demonstravam as relações evolutivas entre os fungos com base em análises filogenéticas (representações gráficas que mostram as relações evolutivas entre as espécies consideradas) passaram a ter grande importância. Essas análises consideram que as espécies evoluem de um ancestral comum, portanto as espécies mais próximas apresentam mais características em comum do que aquelas mais distantes.

As análises filogenéticas de fungos têm focado principalmente no sequenciamento de regiões informativas do genoma, chamadas de marcadores moleculares. Já no ano 2000, pesquisadores australianos propuseram uma profunda revisão de parte do gênero *Metarhizium* após a realização de estudo que envolveu o sequenciamento da região ITS e o uso de Random Amplification of Polymorphic DNA (RAPD). Em anos recentes, outras abordagens moleculares, como amplified fragment length polymorphism (AFLP), sequenciamento de genoma total ou, mais comumente, sequenciamento de regiões específicas do genoma, têm levado a avanços nas propostas filogenéticas para diversos gêneros de fungos entomopatogênicos, sobretudo *Metarhizium* e *Beauveria*. Os estudos demonstraram que ambos os gêneros são, na realidade, complexos de espécies (ver a seção intitulada Principais Espécies Usadas no Controle Biológico Aplicado). Nos dois casos, a identificação das espécies dentro de cada complexo já não é mais possível com a adoção de caracteres morfológicos, mas passou a depender de técnicas de sequenciamento genético e da construção de árvores filogenéticas.

A abordagem filogenética não se restringiu apenas aos gêneros mencionados, já que estudos com *Lecanicillium* (anteriormente *Verticillium lecanii*) e *Isaria* (agrupamento composto de diversas espécies entomopatogênicas anteriormente classificadas no gênero *Paecilomyces*), entre outros, foram também realizados nesse período. Paralelamente, estudos recentes demonstraram a correlação entre a fase sexual e assexual de diversas espécies entomopatogênicas, o que comprova definitivamente que parte dos fungos antes denominados Deuteromicetos é, na realidade, membro do reino Fungi, mas esses fungos estão distribuídos em outros filos, principalmente Ascomycota (Figura 2). Apesar dos inúmeros estudos moleculares conduzidos ao longo de quase 20 anos, muitos estudos adicionais serão necessários para elucidar as relações evolutivas dos gêneros mais conhecidos e de muitos outros menos estudados. O uso de caracteres morfológicos continuará sendo muito útil, tanto para o rápido reconhecimento dos gêneros (e, em alguns casos, espécies) mais estudados, quanto para a identificação taxonômica dos táxons menos focados pelos cientistas. Cumpre ainda destacar que muitas análises filogenéticas não têm sido capazes de propor classificações satisfatórias, o que realça a importância da classificação tradicional baseada em caracteres morfológicos.

Grupos de fungos associados a insetos e ácaros

Considerando-se o dinamismo dos estudos filogenéticos, nos próximos anos será possível presenciar uma série de alterações relevantes na classificação e identificação de fungos associados aos artrópodes. A Tabela 1 mostra a classificação atual dos grupos de fungos, os quais serão brevemente abordados a seguir.

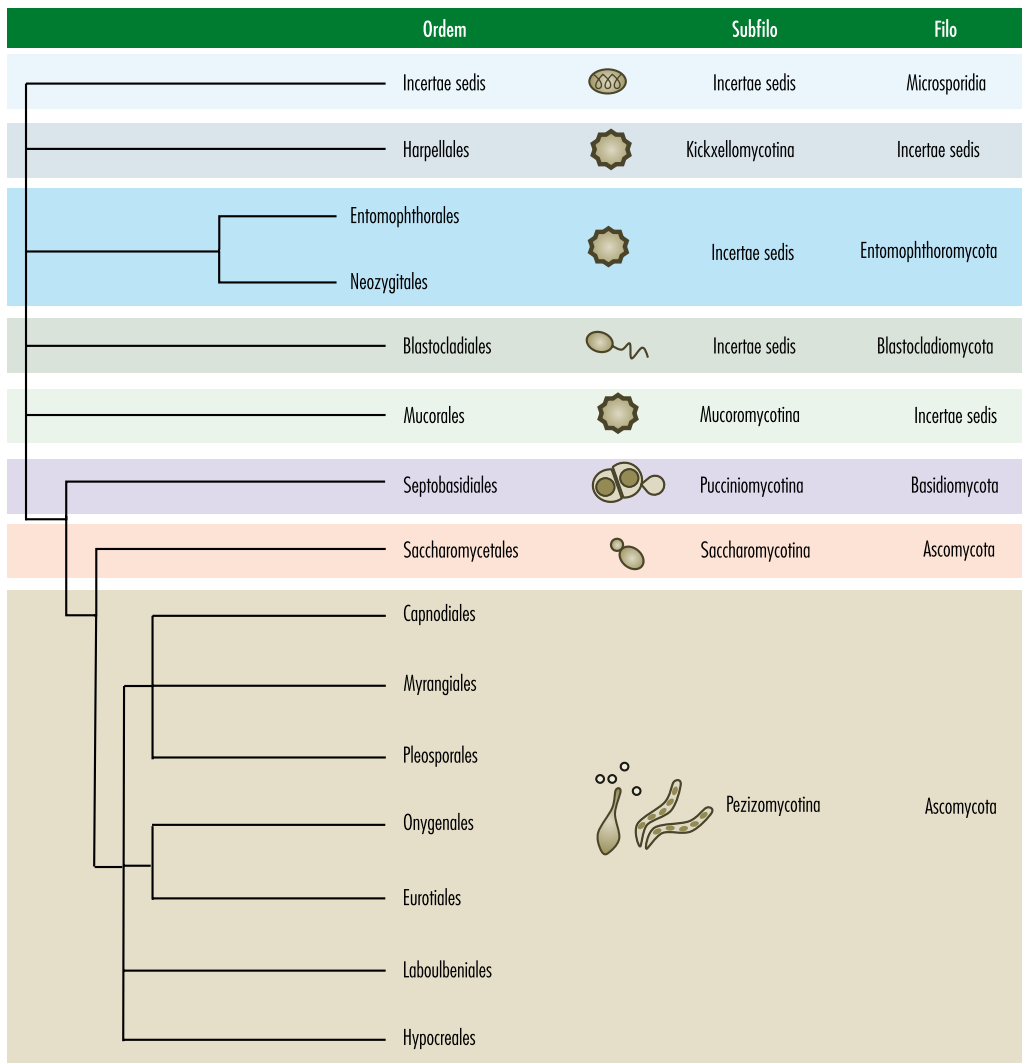


Figura 2. Árvore filogenética com as principais ordens e filios de fungos associados a invertebrados.

Ilustração: Rogério Biaggioni Lopes

Subfilo Kickxellomycotina

Kickxellomycotina foi recentemente descrito como um subfilo e engloba quatro ordens do antigo filo Zygomycota. Uma das ordens, Harpellales, contém gêneros de fungos que são endossimbiontes obrigatórios em artrópodes. Nesse táxon, destacam-se espécies da antiga classe Trichomycetes, comensais de dípteros e efemerópteros. Os gêneros *Stachylina* e *Smittium*, por exemplo, têm sido frequentemente encontrados, respectivamente, nos intestinos posterior e médio de dípteros das famílias Simuliidae e Chironomidae. Parasitismo que resulta na morte de larvas

de mosquitos foi relatado até o momento apenas para uma espécie do segundo gênero, *S. morbosum* (Lichtwardt, 2004).

Subfilo Mucoromycotina

Da mesma forma que o subfilo anterior, o subfilo Mucoromycotina ainda não tem um filo definido e contém parte dos representantes do antigo filo Zygomycota. A ordem Mucorales engloba espécies saprófitas e algumas que parasitam plantas, fungos e animais. *Sporodiniella umbellata* é reconhecida como a única espécie do táxon capaz de infectar insetos, havendo certa especificidade por alguns membros da subordem Auchenorrhyncha, na ordem Hemiptera. Há relatos de epizootias durante períodos chuvosos em lavouras de cacau, quando cigarrinhas da família Membracidae são infectadas. A ocorrência sobre o tegumento de insetos mortos pertencentes a outros grupos demonstra que *S. umbellata* tem potencial saprofítico.

Filo Blastocladiomycota

Membros do filo Blastocladiomycota, que englobam espécies portadoras de flagelos, são adaptados para causar infecções em alguns dípteros. Espécies do gênero *Coelomomyces*, por exemplo, convivem com dípteros aquáticos e apresentam ciclo de vida complexo, com alternância de hospedeiros, envolvendo a passagem por um microcrustáceo e duas gerações de mosquitos. A constante presença do agente infeccioso na população do hospedeiro, em alguns casos de vários anos, pode resultar na mortalidade de mais de 90% das larvas de mosquitos. Ao contrário da maioria dos fungos entomopatogênicos, cuja penetração ocorre via cutícula, membros desse gênero invadem o hospedeiro por via oral, e o sítio de infecção se dá nos intestinos anterior e posterior.

Filo Microsporidia

Os microsporídios, até o final do século passado considerados como protozoários, atualmente são considerados um táxon do reino Fungi ou, na pior das hipóteses, são filogeneticamente próximos. São parasitas intracelulares obrigatórios de animais em geral, tanto vertebrados quanto invertebrados. Do ponto de vista entomológico, há espécies que dizimam colônias de abelhas, enquanto outras são empregadas no controle biológico de gafanhotos. No Brasil, há relato da infecção oral de *Nosema* sp. no parasitoide *Cotesia flavipes* Cameron, um importante agente de controle biológico utilizado em canaviais, o qual contrai o patógeno ao se alimentar do hospedeiro previamente infectado, a lagarta *Diatraea saccharalis* Fabricius (Simões et al., 2012).

Tabela 1. Classificação atual (2017) dos principais fungos associados a insetos e ácaros.

Classe	Ordem	Família	Gênero	Hospedeiro (ordem/família)
Filo Ascomycota – subfilo Saccharomycotina				
Saccharomycetes	Saccharomycetales	Saccharomycetaceae	<i>Candida</i>	Coleoptera (Erotylidae, Tenebrionidae, Scarabaeidae), Dictyoptera (Blattidae), Diptera (Culicidae), Neuroptera (Ascalaphidae, Corydalidae)
		Metschnikowiaceae	<i>Metschnikowia</i>	Coleoptera (Nitidulidae), Neuroptera (Chrysopidae)
Filo Ascomycota – subfilo Pezizomycotina				
Dothideomycetes	Capnodiales	Capnodiaceae	<i>Cladosporium</i>	Coleoptera (Curculionidae), Hemiptera (Aleyrodidae, Aphididae, Cicadellidae, Coccidae, Pseudococcidae), Hymenoptera (Formicidae), Lepidoptera (Lycaenidae), Thysanoptera (Thripidae), Acari (Tetranychidae)
			<i>Tripospherum</i>	Hemiptera (Adelgidae)
	Myriangiales	Myriangiaceae	<i>Myriangium</i>	Hemiptera (Adelgidae, Diaspididae)
	Pleosporales	Tubeufiaceae	<i>Podonectria</i>	Hemiptera (Coccidae, Diaspididae)
		Pleosporaceae	<i>Curvularia</i>	Hemiptera (Cercopidae)
	Didymellaceae	<i>Phoma</i>	Lepidoptera (Lymantriidae)	
Eurotiomycetes	Onygenales	Ascosphaeraceae	<i>Ascosphaera</i>	Hymenoptera (Apidae, Colletidae, Megachilidae)
	Eurotiales	Trichocomaceae	<i>Aspergillus</i>	Vários hospedeiros, normalmente estressados
Laboulbeniomyces (ectoparasitas de artrópodes)	Laboulbeniales	Laboulbeniaceae	<i>Cucujomyces</i>	Coleoptera (Staphylinidae)
			<i>Hesperomyces</i>	Coleoptera (Coccinellidae)
		<i>Laboulbenia</i>	Diptera (Curtonotidae, Richardiidae), Coleoptera (Carabidae, Chrysomelidae, Cleridae, Erotylidae, Gyrinidae, Salpingidae, Staphylinidae)	
		<i>Stigmatomyces</i>	Diptera (Lauxaniidae)	

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Classe	Ordem	Família	Gênero	Hospedeiro (ordem/família)
Sordariomycetes	Hypocreales (ordem com maior número e diversidade de fungos atacando invertebrados)	Clavicipitaceae	<i>Aschersonia</i>	Hemiptera (Aleyrodidae, Coccidae, Diaspididae)
			<i>Hypocrella</i> ⁽¹⁾	Hemiptera (Aleyrodidae, Coccidae, Lecanidae)
			<i>Metacordyceps</i> ⁽¹⁾	Coleoptera, Lepidoptera, Hemiptera (Cicadidae)
			<i>Metarhizium</i>	Enorme diversidade de hospedeiros (muitas ordens e famílias taxonômicas)
			<i>Moelleriella</i> ⁽¹⁾	Hemiptera (Aleyrodidae, Coccidae, Lecanidae)
			<i>Regiocrella</i> ⁽¹⁾	Hemiptera (Coccidae), Lepidoptera
			<i>Samuelsia</i> ⁽¹⁾	Hemiptera (Aleyrodidae, Coccidae, Lecanidae)
			<i>Torrubiella</i> ⁽¹⁾	Hemiptera (Coccidae, Delphacidae, Diaspididae)
			<i>Beauveria</i>	Enorme diversidade de hospedeiros (muitas ordens e famílias)
			<i>Cordyceps</i> ⁽¹⁾	Coleoptera (Chrysomelidae, Scarabaeidae), Lepidoptera (Cossidae, Geometridae, Tineidae)
Cordycipitaceae			<i>Isaria</i> ⁽²⁾	Coleoptera (Buprestidae, Carabidae, Cerambycidae, Chrysomelidae, Coccinellidae, Curculionidae, Lagriidae, Meloidae, Scarabaeidae, Silphidae, Scolytidae, Staphylinidae, Tenebrionidae), Collembola, Diptera (Bibionidae, Calliphoridae, Cecidomyiidae, Culicidae, Muscidae, Simuliidae, Tachinidae, Tipulidae, Xylophagidae), Cictyoptera (Blattellidae), Hemiptera (Adeigidae, Aleyrodidae, Aphididae, Cicadidae, Coccidae, Delphacidae, Lygaeidae, Miridae, Pentatomidae, Pseudococcidae, Psyllidae, Scutelleridae), Hymenoptera (Aphelinidae, Eulophidae, Formicidae, Pamphiliidae, Tenthredinidae), Lepidoptera (Arctiidae, Bombycidae, Geometridae, Lasiocampidae, Lymantriidae, Noctuidae, Notodontidae, Nymphalidae, Plutellidae, Pyralidae, Pyralidae, Sesiidae, Tortricidae), Orthoptera (Gryllidae), Thysanoptera (Thripidae), Acari (Ixodidae)

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Classe	Ordem	Família	Gênero	Hospedeiro (ordem/família)	
Sordariomycetes	Hypocreales (ordem com maior número e diversidade de fungos atacando invertebrados)	Cordycipitaceae	<i>Lecanicillium</i> ⁽²⁾	Coleoptera (Buprestidae, Cerambycidae, Chrysomelidae, Elateridae, Lampyridae, Melyridae, Scolytidae, Silphidae, Staphylinidae, Tenebrionidae), Diptera (Bibionidae, Culicidae, Muscidae, Psychodidae, Simuliidae, Tipulidae, Xylophagidae), Hemiptera (Adeigidae, Aleyrodidae, Aphididae, Coccidae, Diaspididae, Eriococcidae, Lecaniidae, Margarodidae, Ortheziidae, Pentatomidae, Pseudococcidae, Scutelleridae, Tingidae), Hymenoptera (Formicidae, Ichneumonidae, Trichogrammatidae, Vespidae), Lepidoptera (Cossidae, Lymantriidae, Pyralidae, Tortricidae), Orthoptera (Gryllotalpidae), Thysanoptera (Thripidae), Acari (Tetranychidae, Tenuipalpidae)	
				<i>Simplicillium</i>	Coleoptera (Carabidae, Culicidae), Diptera (Muscidae), Hemiptera (Aleyrodidae, Pentatomidae, Tingidae), Orthoptera (Acrididae), Acari (Oribatidae)
				<i>Hirsutella</i>	Coleoptera (Carabidae, Curculionidae), Collembola, Hemiptera (Aphididae, Cicadellidae, Cixiidae, Coccidae, Delphacidae, Derbidae, Diaspididae, Membracidae, Miridae, Psyllidae), Diptera (Itonididae, Sciomyzidae), Hymenoptera (Formicidae, Pamphiliidae), Lepidoptera (Cossidae, Hepialidae, Pyralidae, Tortricidae), Psocoptera (Ectopsocidae, Pseudocaeciliidae), Thysanoptera (Phlaeothripidae, Thripidae), Acari (Eriophyidae, Tarsonemidae, Tenuipalpidae Tetranychidae)
			<i>Ophiocordyceps</i> ⁽¹⁾	Diptera (Xylophagidae), Coleoptera (Scarabaeidae), Hemiptera (Cicadidae)	

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Classe	Ordem	Família	Gênero	Hospedeiro (ordem/família)
Sordariomycetes	Hypocreales (ordem com maior número e diversidade de fungos atacando invertebrados)	Ophiocordycipitaceae	<i>Sorospora</i>	Coleoptera (Curculionidae), Orthoptera (Acrididae), Gryllotalpidae
			<i>Syngliocladium</i>	Diptera (Ulidiidae), Orthoptera (Acrididae)
			<i>Tolyocladium</i>	Coleoptera (Elateridae, Scarabaeidae), Diptera (Anthomyiidae, Bibionidae, Culicidae), Mycetophilidae, Tachinidae), Hemiptera (Tingidae), Hymenoptera (Formicidae, Siridae), Lepidoptera (Noctuidae, Tortricidae), Thysanoptera (Thripidae), Acari (Oribatidae)
Filo Basidiomycota – subfilo Pucciniomycotina				
Pucciniomycetes	Septobasidiales	Septobasidiaceae (todos os membros são parasitas obrigatórios de cochonilhas)	<i>Septobasidium</i>	Hemiptera (Coccidae, Diaspididae)
Filo Entomophthoromycota – subfilo Entomophthoromycotina				
Entomophthoromycetes	Entomophthorales	Entomophthoraceae (todos são patógenos obrigatórios de insetos ou ácaros)	<i>Batkoa</i>	Coleoptera (Cantharidae), Hemiptera (Aphididae, Cercopidae, Cicadellidae), Diptera (Drosophilidae, Sciariidae, Simuliidae, Tipulidae), Lepidoptera (Lasiocampidae, Noctuidae)
			<i>Entomophaga</i>	Diptera (Anthomyiidae, Calliphoridae, Chironomidae, Muscidae, Psilidae, Syrphidae, Scatophagidae), Hemiptera (Aphididae, Cicadellidae, Delphacidae, Cicadidae), Lepidoptera (Tortricidae, Noctuidae, Lasiocampidae, Geometridae, Arctidae, Notodontidae, Saturniidae, Lymantriidae), Orthoptera (Acrididae), Thysanoptera (Thripidae)

Continua..

Tabela 1. Continuação.

Classe	Ordem	Família	Gênero	Hospedeiro (ordem/família)
Entomophthoromycetes	Entomophthorales	Entomophthoraceae (todos são patógenos obrigatórios de insetos ou ácaros)	<i>Entomophthora</i>	Diptera (Anthomyiidae, Calliphoridae, Drosophilidae, Muscidae, Sarcophagidae, Syrphidae), Hemiptera (Aleyrodidae, Aphididae)
			<i>Erynia</i>	Diptera (Chironomidae, Culicidae, Mycetophilidae, Psychodidae, Simuliidae, Tipulidae), Trichoptera (Hydropsychidae)
			<i>Eryniopsis</i>	Diptera (Ptychopteridae, Tipulidae)
			<i>Furia</i>	Diptera (Empididae), Hemiptera (Cercopidae, Miridae), Lepidoptera (Lasiocampidae, Noctuidae, Pieridae)
			<i>Massospora</i>	Hemiptera (Cicadidae)
			<i>Pandora</i>	Diptera (Sciaridae), Coleoptera (Elateridae), Hemiptera (Aphididae, Cicadellidae, Delphacidae, Membracidae, Miridae), Lepidoptera (Arctiidae, Noctuidae, Plutellidae)
			<i>Strongwellsea</i>	Diptera (Anthomyiidae, Calliphoridae, Muscidae, Sarcophagidae)
			<i>Zoophthora</i>	Diptera (Anthomyiidae), Coleoptera (Carabidae, Curculionidae, Elateridae), Dermoptera (Forficulidae), Hemiptera (Aphididae, Cercopidae, Cicadellidae, Miridae, Psyllidae, Thaumastocoridae), Hymenoptera (Diprionidae), Lepidoptera (Gelechiidae, Geometridae, Noctuidae, Pieridae, Plutellidae, Pyralidae, Tortricidae)
			<i>Conidiobolus</i>	Coleoptera (Curculionidae), Collembola, Diptera (Anthomyiidae, Culicidae, Heliomyzidae, Psilidae, Psychodidae, Sciaridae, Tipulidae), Hemiptera (Adelgidae, Aphididae, Cercopidae, Cicadellidae, Cixiidae, Delphacidae, Issidae, Membracidae), Hymenoptera (Formicidae), Isoptera (Termitidae), Lepidoptera (Noctuidae, Plutellidae, Tortricidae), Orthoptera (Acrididae), Thysanoptera (Thripidae)
			Meristacraceae	<i>Tabanomyces</i>

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Classe	Ordem	Família	Gênero	Hospedeiro (ordem/família)
Neozygitomycetes	Neozygitales	Neozygitaceae (todos são patógenos obrigatórios de insetos ou ácaros)	<i>Neozygitis</i>	Hemiptera (Aphididae), Thysanoptera (Thripidae), Acari (Tetranychidae)
Filo Indefinido – subfilo Kickxellomycotina				
Indefinido	Harpellales (endossimbiontes obrigatórios em artrópodes)	Lageriomycetaceae	<i>Bojamyces</i>	Ephemeroptera (Leptophlebiidae)
			<i>Smittium</i>	Diptera (Chironomidae, Simuliidae)
			<i>Tectomyces</i>	Ephemeroptera (Leptophlebiidae)
			<i>Harpella</i>	Diptera (Simuliidae)
		Harpellaceae	<i>Stachylina</i>	Diptera (Chironomidae, Simuliidae)
Filo Indefinido – subfilo Mucoromycotina				
Indefinido	Mucorales	Mucoraceae	<i>Sporodiniella</i> (S. <i>umbellata</i> é a única espécie entomopatogênica)	Hemiptera (Jassidae, Membracidae)
Filo Blastocladiomycota – subfilo indefinido				
Blastocladiomycetes	Blastocladales	Coelomomycetaceae	<i>Coelomomyces</i>	Diptera (Chironomidae, Culicidae, Psychodidae, Simuliidae, Tabanidae)
			<i>Coelomyxidium</i>	Diptera (Simuliidae)
Filo Microsporidia – subfilo indefinido				
Indefinido	Indefinido		<i>Nosema</i>	Coleoptera (Curculionidae), Hemiptera (Miridae, Plataspidae), Hymenoptera (Apidae), Lepidoptera (Bombycidae, Crambidae, Lymantriidae, Noctuidae, Tortricidae)
			<i>Paranosema</i>	Coleoptera (Tenebrionidae), Orthoptera (Acrididae, Gryllidae)
			<i>Vairimorpha</i>	Lepidoptera (Lymantriidae, Noctuidae)

(1) Gêneros teleomórficos (fase sexual).

(2) Baseado em análise multigênica, Kepler et al. (2017) recomendam a rejeição dos nomes genéricos *Isaria* e *Lecanicillium* e sua substituição por *Cordyceps* e *Akanthomyces*, respectivamente. Fonte: Hibbett et al. (2007), Humber (2008, 2012) e Arsef Catalog (2015).

Filo Entomophthoromycota

O atual filo Entomophthoromycota abriga inúmeros representantes do antigo filo Zygomycota. Na classe Entomophthoromycetes, a ordem Entomophthorales é bastante estudada, principalmente a família Entomophthoraceae, na qual todos os integrantes são patógenos obrigatórios de insetos ou ácaros. Curiosamente, em todo o filo apenas a espécie *Conidiobolus thromboides*, na família Ancylistaceae, atingiu status comercial como micoinseticida. Já a classe Neozygitomycetes abriga fungos do gênero *Neozygites*, composta por patógenos obrigatórios de insetos ou ácaros.

Filo Basidiomycota

Embora numericamente enorme, poucos representantes deste filo são entomopatogênicos. Espécies dos cinco gêneros da família Septobasidiaceae são parasitas de cochonilhas, embora a grande maioria delas (aproximadamente 175) esteja inserida no gênero *Septobasidium*. A relação resulta no parasitismo de algumas cochonilhas, mas, do ponto de vista populacional, a relação é usualmente benéfica pois confere abrigo e proteção a inúmeros indivíduos por meio da estrutura micelial formada nos ramos e folhas. As cochonilhas que se mantêm sob o manto micelial ficam fisicamente protegidas do ataque de inimigos naturais.

Filo Ascomycota

No filo Ascomycota, o subfilo Saccharomycotina é representado por espécies de leveduras. Várias espécies de *Candida* e *Geotrichum*, por exemplo, residem no intestino de besouros que se alimentam de cogumelos. Embora a relação levedura-hospedeiro não seja bem compreendida, acredita-se que as leveduras auxiliam na digestão de alimentos e, em alguns casos, na desintoxicação por alguns componentes ingeridos e, ainda, como fonte de vitaminas. A espécie leveduriforme *Symbiotaphrina kochii*, cuja filogenia dentro do filo Ascomycota permanece incompleta (indefinição de classe, ordem e família taxonômica), apresenta estreita interação com o besouro *Lasioderma serricorne*, importante praga cosmopolita da indústria fumageira, auxiliando-o na desintoxicação de componentes do fumo curado atacado pela fase larval. Normalmente, as leveduras estão presentes no intestino de insetos que ingerem material vegetal, havendo limitada associação com intestinos de insetos predadores. Centenas de espécies de leveduras, incluindo *Saccharomyces cerevisiae*, têm sido isoladas em baixa frequência, o que indica a existência de forte associação com o alimento e não com o inseto; portanto, as associações com os insetos teriam natureza transitória.

O subfilo Pezizomycotina é o que apresenta a maior diversidade de táxons associados a insetos. Embora a classe Dothideomycetes seja pouco estudada por patologistas de insetos, sua importância na regulação natural de diversos insetos não deve ser menosprezada. A classe Eurotiomycetes engloba fungos do gênero *Aspergillus*, conhecidos pela estreita associação com insetos estressados que causam, em alguns casos, elevada mortalidade em criações de lepidópteros e insetos de outras ordens. Outro representante dessa classe que tem causado vultosos prejuízos econômicos é o gênero *Ascospaera*, com a maior parte das espécies associados a abelhas solitárias ou sociais, que atuam como saprófitas ou, mais usualmente, patógenos. *Ascospaera apis* é agente causal da ascosferiose em larvas da abelha-europeia, *Apis mellifera*, sendo a infecção desencadeada pela ingestão de ascósporos (esporos sexuais) via alimentos contaminados, incluindo o próprio mel. Essa doença é também conhecida como cria-giz, uma vez que as larvas mortas tornam-se rígidas e mumificadas, assumindo o aspecto de um pequeno bastão de giz branco. Um dos fatores responsáveis pela maior suscetibilidade à doença é o estresse das abelhas e, por isso mesmo, o correto manejo das colmeias é importante para evitar a redução populacional provocada pela ação desse patógeno.

A classe Laboulbeniomyces é repleta de fascinantes membros diminutos, e a quase totalidade dos milhares de espécies conhecidas sobrevive como ectoparasitas obrigatórios de hospedeiros do filo Arthropoda, principalmente insetos e, em menor escala, diplópodes e ácaros. Sobrevivem sobre a cutícula dos seus hospedeiros, preferencialmente coleópteros e dípteros, e, com raras exceções, existe certo grau de especificidade, já que cada espécie coloniza hospedeiros taxonomicamente próximos. Esses fungos formam talos que penetram a cutícula e alcançam a hemolinfa para extração de nutrientes. Entretanto, efeitos deletérios causados por essa invasão não são sempre evidentes e, em muitos casos, os efeitos negativos estão mais relacionados à menor mobilidade ou capacidade sensorial que resulta da elevada densidade de estruturas fúngicas sobre as asas ou antenas, respectivamente.

Por fim, a classe Sordariomycetes detém maior número e diversidade de espécies de fungos patogênicos a insetos e ácaros, sobretudo a ordem Hypocreales, e nela as famílias Ophiocordycipitaceae, Cordycipitaceae e Clavicipitaceae. Do ponto de vista comercial, essas famílias abrigam a quase totalidade das espécies de fungos usadas em programas de controle biológico de artrópodes-praga no mundo. Os representantes entomopatogênicos normalmente reproduzem-se de forma assexuada, embora haja também gêneros com reprodução sexuada, mas estes últimos não alcançaram o status de micoinseticidas, muito embora sejam apreciados por inúmeras outras razões. Em alguns países asiáticos, há grande demanda pelo fungo *Ophiocordyceps sinensis* em razão das propriedades medicinais que abarcam desde

a recuperação pós-cirúrgica até o retardamento no processo de envelhecimento, tornando-o o item mais caro da milenar medicina chinesa. O fungo infecta lagartas da família Hepialidae em regiões alpinas do Nepal e do Tibete, mas tem havido acentuada queda na biomassa por causa da frenética busca por larvas infectadas.

Nomenclatura de fungos com ciclo de vida pleomórfico

Inúmeros fungos ascomicetos e basidiomicetos apresentam ciclo de vida pleomórfico, isto é, a ocorrência dos ciclos sexual (fase teleomórfica) e assexual (fase anamórfica) se dá na mesma espécie. Há grande diferença morfológica entre as duas formas, e, até recentemente, elas foram consideradas organismos distintos e, conseqüentemente, cada qual recebeu um nome científico próprio. Ao longo dos últimos anos, foi possível estabelecer relações entre as fases sexual e assexual. Liang e colegas (1991), por exemplo, demonstraram que o cultivo de *Metacordyceps taii* em meio com arroz ou a passagem por inseto resultava na formação da fase assexuada, hoje chamada de *M. guizhouense*. Entretanto, com o advento de técnicas moleculares, algumas conexões entre as fases teleomórfica e anamórfica foram esclarecidas. Em 2005, o sequenciamento da região ITS confirmou que *M. taii* era mesmo a fase anamórfica da espécie *M. guizhouense*. Outras conexões foram geneticamente demonstradas, como entre *Hirsutella sinensis* e *O. sinensis*; *B. bassiana* e *Cordyceps bassiana*; e *Metarhizium majus* e *Metacordyceps brittlebankisoides*. Além disso, é muito provável que muitas outras conexões serão desvendadas nos anos vindouros.

Como o sequenciamento genético das formas sexual e assexual leva a resultados idênticos, essa redundância fica evidente nas árvores filogenéticas. Desde 2011, a prática de adoção de dois nomes científicos para o mesmo fungo foi oficialmente abolida, independentemente do estágio do ciclo de vida. A partir dessa data, a regra “um fungo = um nome” passou a ser adotada. Além disso, o nome genérico válido para cada conexão anamorfo-teleomorfo deverá ser confirmado por especialistas em congressos específicos, e a tendência é que tenha prioridade os nomes publicados há mais tempo, e a popularidade dos nomes na comunidade científica será levada em consideração. Nomes de muitas espécies de fungos entomopatogênicos da ordem Hypocreales deverão ser alterados, incluindo aqueles dos gêneros *Isaria*, *Lecanicillium* e *Hirsutella*. Acredita-se que a adoção da regra “um fungo = um nome” ainda levará muitos anos para ser amplamente aplicada a toda a diversidade de fungos com ciclo de vida pleomórfico.

Principais espécies usadas no controle biológico aplicado

Há um número enorme de artigos científicos que abordam as espécies de fungos associadas aos artrópodes terrestres, mas apenas uma pequena fração destes fungos foi desenvolvida como princípio ativo de micoinseticidas, o que inclui representantes dos filos Ascomycota, Entomophthoromycota e Microsporidia.

No filo Ascomycota, o único gênero na família Ophiocordycipitaceae que alcançou visibilidade mundial foi *Hirsutella*. Nos anos 1970, um produto comercial à base de *Hirsutella thompsonii* foi desenvolvido e comercializado na Flórida para o controle de adultos e imaturos do ácaro *Phyllocoptruta oleivora* em pomares cítricos, promovendo adequado controle da praga durante os meses chuvosos. Embora *H. thompsonii* seja específico para ácaros das famílias Eriophyidae e Tetranychidae, membros de outras espécies são patogênicos a diversos insetos, como coleópteros, dípteros, himenópteros, lepidópteros e psocópteros. A família Cordycipitaceae contempla inúmeros gêneros comercialmente relevantes, com destaque para *Isaria*, *Lecanicillium* e *Beauveria*. Rehner e Buckley (2011) demonstraram que a famosa espécie *B. bassiana* é, na realidade, um complexo de espécies, também conhecido como *B. bassiana* sensu lato, o qual é composto pelas espécies *Beauveria amorpha*, *Beauveria asiatica*, *Beauveria australis*, *B. bassiana* sensu stricto, *Beauveria brongniartii*, *Beauveria caledonica*, *Beauveria kipukae*, *Beauveria malawiensis*, *Beauveria pseudobassiana*, *Beauveria sungii*, *Beauveria varroae* e *Beauveria vermiconia*. Dessas espécies, *B. amorpha*, *B. bassiana* sensu stricto, *B. pseudobassiana* e *B. caledonica* já foram encontradas no Brasil. *B. asiatica*, *B. bassiana* sensu stricto e *B. brongniartii* são o princípio ativo de micoinseticidas em vários países. Da mesma forma, *I. javanica*, *L. longisporum* e *L. muscarium* são ou já foram o princípio ativo de micoinseticidas.

Outra família que abriga gêneros comercialmente relevantes é a Clavicipitaceae, com destaque para *Aschersonia* e *Metarhizium*. De acordo com Bischoff et al. (2009), o complexo de espécies conhecido como *M. anisopliae*, ou *M. anisopliae* sensu lato, é composto pelas seguintes espécies: o agrupamento denominado PARB (*M. pingshaense*, *M. anisopliae* sensu stricto, *M. robertsii* e *M. brunneum*), outro chamado MGT (*M. majus* e *M. guizhouense*, este último corresponde à fase anamórfica de *M. taii*), além de *M. acridum*, *Metarhizium globosum* e *Metarhizium lepidiotae*. Outras espécies desse gênero foram descritas desde então, a exemplo de *Metarhizium alvesii* e *Metarhizium humberi* no Brasil. Entre os micoinseticidas com fungos desse gênero, aqueles à base de *M. anisopliae* sensu stricto, *M. brunneum* e *M. acridum* ocupam papel de destaque. Com relação a *Aschersonia aleyrodis*, um produto chamado Aseronia foi desenvolvido na ex-União Soviética, visando ao controle de moscas-brancas, no entanto não é mais comercializado. O mesmo fato ocorreu com produto

comercial à base do fungo *Metarhizium rileyi* (syn. *Nomuraea rileyi*), desenvolvido na Colômbia e destinado ao controle de lagartas, muito embora haja relatos de sua produção massal em Cuba e, ainda, alguns projetos em andamento no Brasil com o intuito de desenvolver um lagartocida biológico.

No filo Entomophthoromycota, o único membro que atingiu status comercial foi *C. thomboides*, previamente conhecido como *Entomophthora virulenta*. Em levantamento realizado por Faria e Wraight (2007), é mencionado o emprego desse patógeno para o controle de alguns hemípteros (pulgões e cochonilhas) e tripes. Na ocasião, havia um produto em desuso na África do Sul e outro ativo na Colômbia e em países da América Central.

Uma espécie adotada em programas de controle biológico clássico é o microsporídio *Paranosema locustae*, que, até 2003, era conhecido como *Nosema locustae*. Como o próprio nome indica, é parasita obrigatório em ortópteros e, entre eles, principalmente os *grasshoppers* e *locusts*, que, na língua portuguesa, são indistintamente chamados de gafanhotos. Após sua introdução nos pampas argentinos no período 1978-1982, a partir dos EUA, levantamento realizado em 2011 por Bardi et al. (2012) demonstrou o estabelecimento do patógeno em populações de mais de 20 espécies de hospedeiros, cobrindo uma área de aproximadamente 90 mil quilômetros quadrados. Explosões populacionais de gafanhotos-praga na área mencionada são raras, mas espécies ecologicamente benéficas têm sido também infectadas por *P. locustae*.

PROGRAMAS DE CONTROLE BIOLÓGICO

Muitos programas de controle de pragas com micopesticidas em todo o mundo vêm sendo periodicamente reportados em artigos de revisão e livros, como os recentemente publicados por Lacey et al. (2015) e Lacey (2017).

Em geral, os micopesticidas ocupam nichos de mercado, não raramente sendo desenvolvidos para regiões geográficas ou culturas e alvos específicos. Muitos dos produtos comerciais foram desenvolvidos para uso em cultivos protegidos de hortaliças, ornamentais e algumas frutas e, em alguns casos, usados de forma combinada com outros inimigos naturais. Porém, em várias regiões do globo, existem outros exemplos bem-sucedidos de controle de pragas em grandes áreas de cultivo. Em países da África e da Austrália, o desenvolvimento de formulações oleosas de *M. acridum* surgiu como alternativa viável para o controle de gafanhotos, incluindo a temível espécie *Schistocerca gregaria*. Outro exemplo de sucesso é o emprego de *B. brongniartii* por meio de introduções inoculativas em áreas de florestas e pomares

na Europa contra o besouro *Melolontha melolontha* (Linnaeus). Aplicações desse fungo podem promover níveis satisfatórios de controle por até 9 anos (Keller et al., 1997). Bandas de tecido impregnadas com essa mesma espécie de fungo vêm sendo utilizadas no Japão e na China contra o besouro *Monochamus alternatus* Hope (Shimazu, 2009; Li et al., 2010). Outra espécie do mesmo gênero, *B. bassiana*, também é usada extensivamente na China desde a década de 1970 para o controle da lagarta *Dendrolimus punctatus* (Walker) (Lord, 2005; Li et al., 2010).

É também marcante o histórico de emprego do controle biológico em Cuba, a despeito das dificuldades econômicas do país. Com o embargo norte-americano e a crise que se instalou no país no início dos anos 1990, o governo cubano anunciou drásticas reformas. O Ministério da Agricultura de Cuba concentrou esforços no desenvolvimento e na aplicação do controle biológico, envolvendo nesse processo organizações de proteção vegetal, laboratórios regionais de pesquisa e diagnósticos, além de cerca de 270 Centros Reproductores de Entomófagos y Entomopatógenos (Cree) (Vásquez-Moreno et al., 2010). A produção e o emprego de entomopatógenos fúngicos em Cuba incluem os fungos *B. bassiana* s.l., *M. anisopliae* s.l. e *Lecanicillium lecanii*, entre outros microrganismos, permitindo o controle de um grande número de pragas na agricultura (Oppenheim, 2001). Porém, como frequentemente acontece, não há dados sobre medidas de eficiência desses programas.

O número de empresas no Brasil com produtos biológicos registrados teve um aumento de 83% em menos de uma década. Um dos maiores programas de controle de artrópode-praga por meio de fungos ocorre no Brasil. Mais de 750 mil hectares de cana-de-açúcar e 250 mil hectares de pastagens são tratadas anualmente com *M. anisopliae* s.l. contra cercopídeos, especialmente de cigarrinhas do gênero *Mahanarva* (Li et al., 2010). Outros países latino-americanos como Guatemala, Nicarágua, México e Costa Rica também empregam o mesmo fungo para o controle de cercopídeos em cana-de-açúcar (Alves et al., 2008). Embora elevada em termos absolutos, a participação percentual dos fungos como agentes de controle biológico ainda é tímida nas culturas para as quais há alternativas biológicas disponíveis.

O perfil atual da indústria de agentes de controle biológico inclui, em sua maioria, pequenas e médias empresas especializadas, poucas estabelecidas há mais de 15 anos. Grandes empresas tradicionalmente líderes no mercado de agrotóxicos sintéticos estão adquirindo ou reativando divisões relacionadas ao desenvolvimento de biopesticidas, por causa das perspectivas de negócios no mercado brasileiro.

DESAFIOS E PERSPECTIVAS

Assim como qualquer outra tática de controle de pragas, o controle microbiano com fungos entomopatogênicos apresenta vantagens e desvantagens, e não deve ser enxergado como a única alternativa a ser adotada. O tempo relativamente longo para levar os hospedeiros à morte é considerado uma desvantagem, mas somente nos casos em que a sobrevivência do inseto na lavoura possa resultar em perdas econômicas significativas. Não raramente, durante a evolução da doença, alguns aspectos fisiológicos são alterados antes da morte do hospedeiro, entre eles os hábitos de alimentação e reprodução, os quais reduzem o potencial destrutivo dos organismos infectados. A necessidade de condições de elevada umidade relativa e a vulnerabilidade à radiação solar são outros fatores limitantes ao uso dos micoinseticidas. Nesse contexto, as condições abióticas no momento da aplicação devem ser cuidadosamente monitoradas, podendo-se, por exemplo, priorizar as aplicações ao final do dia e durante a noite, quando a radiação solar é menor ou ausente e a umidade relativa do ar é favorável à ação do entomopatógeno. Em cultivos protegidos, os efeitos negativos desses fatores podem ser minimizados pelo emprego de coberturas específicas e sistemas de irrigação ou aspersão controlada de água. Adicionalmente, os avanços nos processos de produção, a seleção de linhagens apropriadas que levam em conta a competência ecológica e, sobretudo, o desenvolvimento de formulações específicas podem auxiliar no combate aos efeitos abióticos danosos aos fungos.

Por sua vez, as vantagens do uso de fungos entomopatogênicos são numerosas. Destaca-se sua segurança para os organismos vertebrados e o meio ambiente, além da contribuição para o menor emprego de produtos químicos nas lavouras. Fungos entomopatogênicos são organismos componentes do ambiente, que podem ser isolados de solo e de insetos e, normalmente, apresentam bons níveis de especificidade ao hospedeiro. Podem causar epizootias espetaculares, principalmente em cultivos perenes, semiperenes e em casas de vegetação, desde que encontrem condições de umidade relativa propícias ao seu desenvolvimento. Por causa do complexo mecanismo de ação dos fungos, que envolve a travessia da cutícula dos hospedeiros, o desenvolvimento de resistência por parte de insetos e ácaros é bastante improvável. Essa vantagem é importante e desejável no contexto atual de redução de opções químicas para o agricultor, tanto pelo cancelamento de registro dos produtos químicos mais tóxicos quanto pela dificuldade de descoberta de novas moléculas inseticidas. Além dos aspectos relacionados à resistência, o potencial que os fungos têm de causar a morte de artrópodes sugadores, quando comparado às bactérias e aos vírus entomopatogênicos, que atuam via oral, torna-os agentes de grande interesse para o controle de moscas-brancas e pulgões, entre outras pragas.

REFERÊNCIAS

- ALI, S.; REN, S. X.; HUANG, Z.; WU, J. H. Purification of enzymes related to host penetration and pathogenesis from entomopathogenic fungi. In: MENDEZ-VILAS, A. (Ed.). Current research, technology and education topics in applied microbiology and microbial biotechnology. **Formatex Research**, 2010. v. 1, p. 15-22.
- ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: Fealq, 1998.
- ALVES, S. B.; LOPES, R. B.; VIEIRA, S. A.; TAMAI, M. A. Fungos entomopatogênicos usados no controle de pragas na América Latina. In: ALVES, S. B.; LOPES, R. B. (Ed.). **Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios**. Piracicaba: Fealq, 2008. p. 69-110.
- ARSEF Catalog. 2015. Disponível em: <<https://data.nal.usda.gov/dataset/ars-collection-entomopathogenic-fungal-cultures-arsef>>. Acesso em: 30 jan. 2019.
- BARDI, C.; MARIOTTINI, Y.; PLISCHUK, S.; LANGE, C. E. Status of the alien pathogen *Paranosema locustae* (Microsporidia) in grasshoppers (Orthoptera: Acridoidea) of the Argentine Pampas. **Biocontrol Science and Technology**, v. 22, n. 5, p. 497-512, 2012. DOI: 10.1080/09583157.2012.665023.
- BAXI, S. N.; PORTNOY, J. M.; LARENAS-LINNEMANN, D.; PHIPATANAKUL, W.; ENVIRONMENTAL ALLERGENS WORKGROUP. Exposure and health effects of fungi on humans. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 4, n. 3, p. 396-304, May-June, 2016. DOI: 10.1016/j.jaip.2016.01.008.
- BAYISSA, W.; EKESI, S.; MOHAMED, S. A.; KAAYA, G. P.; WAGACHA, J. M.; HANNA, R.; MANIANIA, N. Interactions among vegetable-infesting aphids, the fungal pathogen *Metarhizium anisopliae* (Ascomycota: Hypocreales) and the predatory coccinellid *Cheilomenes lunata* (Coleoptera: Coccinellidae). **Biocontrol Science and Technology**, v. 26, p. 274-290, 2016. DOI: 10.1080/09583157.2015.1099148.
- BEEZHOLD, D. H.; GREEN, B. J.; BLACHERE, F. M.; SCHEMECHEL, D.; WEISSMAN, D. N.; VELICKOFF, D.; HOGAN, M. B.; WILSON, N.W. Prevalence of allergic sensitization to indoor fungi in West Virginia. **Allergy Asthma Proceedings**, v. 29, p. 29-34, 2008.
- BISCHOFF, J. F.; REHNER, S. A.; HUMBER, R. A. A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. **Mycologia**, v. 101, p. 512-530, 2009. DOI: 10.3852/07-202.
- BORGES, M.; LEAL, S. C. M.; TIGANO-MILANI, M. S.; VALADARES-INGLIS, M. C. Efeito do feromônio de alarme do percevejo verde, *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae) sobre o fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 22, p. 505-512, 1993.
- BRAGA, G. U. L.; RANGEL, D. E. N.; FERNANDES, E. K. K.; FLINT, S. D.; ROBERTS, D. W. Molecular and physiological effects of environmental UV radiation on fungal conidia. **Current Genetics**, v. 61, n. 3, p. 405-425, Aug. 2015.
- BRASIL. Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei no 7.802, de 11 de julho de 1989, que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 1 ago. 2019.
- BRASIL. Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a

classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, 12 jul. 1989.

BRUNNER-MENDOZA, C.; NAVARRO-BARRANCO, H.; LEON-MANCILLA, B.; PEREZ-TORRES, A.; TORIELLO, C. Biosafety of an entomopathogenic fungus *Isaria fumosorosea* in an acute dermal test in rabbits.

Cutaneous and Ocular Toxicology, v. 36, p. 12-18, 2017. DOI: 10.3109/15569527.2016.1156122.

BUSHLEY, K. E.; RAJA, R.; JAISWAL, P.; CUMBIE, J. S.; NONOGAKI, M.; BOYD, A. E.; OWENSBY, A.; KNAUS, B. J.; ELSER, J.; MILLER, D.; DI, Y.; MCPHAIL, K. L.; SPATAFORA, J. W. 2013 The genome of *Tolypocladium inflatum*: evolution, organization, and expression of the cyclosporin biosynthetic gene cluster.

PLoS Genetics, v. 9, n. 6, June 2013. DOI: 10.1371/journal.pgen.1003496.

DUO-CHUAN, L. Review of fungal chitinases. **Mycopathologia**, v. 161, n. 6, p. 345-360, 2006.

FARIA, M. R.; WRAIGHT, S. P. Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. **Biological Control**, v. 43, n. 3, p. 237-256, Dec. 2007. DOI: 0.1016/j.biocontrol.2007.08.001.

FARIA, M.; LOPES, R. B.; SOUZA, D. A.; WRAIGHT, S. P. Conidial vigor vs. viability as predictors of virulence of entomopathogenic fungi. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 125, p. 68-72, 2015. DOI: 10.1016/j.jip.2014.12.012.

GOŁĘBIEWSKI, M.; MALIŃSKI, E.; BOGUŚ, M.I.; KUMIRSKA, J. The cuticular fatty acids of *Calliphora vicina*, *Dendrolimus pini* and *Galleria mellonella* larvae and their role in resistance to fungal infection. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 38, p. 619-627, 2008. DOI: 0.1016/j.ibmb.2008.03.005.

GOŁĘBIEWSKI, M.; URBANEK, A.; OLESZCZAKA, A.; DAWGULC, M.; KAMYSZC, W.; BOGUŚ, M.I.; STEPNOWSKI, P. The antifungal activity of fatty acids of all stages of *Sarcophaga carnaria* L. (Diptera: Sarcophagidae). **Microbiological Research**, v. 169, n. 4, p. 279-286, Apr. 2014. DOI: 10.1016/j.micres.2013.07.011.

GUPTA, S.; KRASNOFF, S. B.; ROBERTS, D. W.; RENWICK, J. A. A.; BRINEN, L. S.; CLARDY, J. Structure of efrapeptins from the fungus *Tolypocladium niveum*: peptide inhibitors of mitochondrial ATPase. **Journal of Organic Chemistry**, v. 57, p. 2306-2313, Apr. 1992. DOI: 10.1021/jo00034a022.

GUPTA, S.; KRASNOFF, S. B.; UNDERWOOD, N. L.; RENWICK, J. A. A.; ROBERTS, D. W. Isolation of beauvericin as an insect toxin from *Fusarium semitectum* and *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*. **Mycopathologia**, v. 115, n. 3.

GUPTA, S.; ROBERTS, D. W.; RENWICK, J. A. A. Insecticidal cyclodepsipeptides from *Metarhizium anisopliae*. **Journal of Chemical Society, Perkin Transactions 1**, n. 12, p. 2347-2357, 1989. DOI: 10.1039/A908808C.

HIBBETT, D. S.; BINDER, M.; BISCHOFF, J. F.; BLACKWELL, M.; CANNON, P. F.; ERIKSSON, O. E.; HUHDORF, S.; JAMES, T.; KIRK, P. M.; LÜCKING, R.; THORSTEN LUMBSCH, H.; LUTZONI, F.; MATHENY, P. B.; MCLAUGHLIN, D. J.; POWELL, M. J.; REDHEAD, S.; SCHOCH, C. L.; SPATAFORA, J. W.; STALPERS, J. A.; VILGALYS, R.; AIME, M. C.; APTROOT, A.; BAUER, R.; BEGEROW, D.; BENNY, G. L.; CASTLEBURY, L. A.; CROUS, P. W.; DAI, Y. C.; GAMS, W.; GEISER, D. M.; GRIFFITH, G. W.; GUEIDAN, C.; HAWKSWORTH, D. L.; HESTMARK, G.; HOSAKA, K.; HUMBER, R. A.; HYDE, K. D.; IRONSIDE, J. E.; KÖLJALG, U.; KURTZMAN, C. P.; LARSSON, K. H.; LICHTWARDT, R.; LONGCORE, J.; MIADLIKOWSKA, J.; MILLER, A.; MONCALVO, J. M.; MOZLEY-STANDRIDGE, S.; OBERWINKLER, F.; PARMASO, E.; REEB, V.; ROGERS, J. D.; ROUX, C.; RYVARDEN, L.; SAMPAIO, J. P.; SCHÜSSLER, A.; SUGIYAMA, J.; THORN, R. G.; TIBELL, L.; UNTEREINER, W. A.; WALKER, C.; WANG, Z.; WEIR, A.; WEISS, M.; WHITE, M. M.; WINKA, K.; YAO, Y. J.; ZHANG, N. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. **Mycological Research**, v. 111, n. 5, p. 509-547, May 2007. DOI: 10.1016/j.mycres.2007.03.004.

HOKKANEN, H. M. T.; MENZLER-HOKKANEN, I. Use of honeybees in the biological control of plant diseases. **Entomology Research**, v. 37, p. A62-A63, Aug. 2007.

HU, G.; St. LEGER, R. J. Field studies using a recombinant mycopesticide (*Metarhizium anisopliae*) reveal that it is rhizosphere competent. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, p. 6383-6387, 2002.

HUMBER, R. A. *Entomophthoromycota*: a new phylum and reclassification of entomophthoroid fungi. **Mycotaxon**, v. 120, p. 477-492, 2012. DOI: 10.5248/120.477.

HUMBER, R. A. Evolution of entomopathogenicity in fungi. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 98, p. 262-266, July 2008.

ISAKA, M.; YANGCHUM, A.; RACHTAWEE, P.; KOMWIJIT, S.; LUTTHISUNGNEON, A. Hopane-type triterpenes and binaphthopyrones from the scale insect pathogenic fungus *Aschersonia paraphysata* BCC 11964. **Journal of Natural Products**, v. 73, n. 4, p. 688-692, 2010.

JAMES, R. R.; BUCKNER, J. S.; FREEMAN, T. P. Cuticular lipids and silverleaf whitefly stage affect conidial germination of *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 84, p. 67-74, 2003. DOI: 10.1021/np1000363.

JAVAR, S.; MOHAMED, R.; SAJAP, A. S.; LAU, W-H. Expression of pathogenesis-related genes in *Metarhizium anisopliae* when infecting *Spodoptera exigua*. **Biological control**, v. 85, p. 30-36, June 2015. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2015.03.006.

KARISE, R.; DREYERSDORFF, G.; JAHANI, M.; VEROMANN, E.; RUNNO-PAURSON, E.; KAART, T.; SMAGGHE, G.; MÄND, M. Reliability of the entomovector technology using Pestop-Mix and *Bombus terrestris* L. as a fungal disease biocontrol method in open field. **Scientific Reports**, v. 6, art. number 31650, Aug. 2016.

KELKENBERG, M.; ODMAN-NARESH, J.; MUTHUKRISHNAN, S.; MERZENDORFER, H. Chitin is a necessary component to maintain the barrier function of the peritrophic matrix in the insect midgut. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 56, p. 21-28, Jan. 2015. DOI: 10.1016/j.ibmb.2014.11.005.

KELLER, S.; SCHWEIZER, C.; KELLER, E.; BRENNER, H. Control of white grubs (*Melolontha melolontha* L.) by treating adults with the fungus *Beauveria brongniartii*. **Biocontrol Science & Technology**, v. 7, n. 105-116, 1997. DOI: 10.1080/09583159731090.

KEPLER, R. M.; LUANGSA-ARD, J.; HYWEL-JONES, N. L.; QUANDT, C. A.; SUNG, G-H.; REHNER, S. A.; AIME, C.; HENKEL, T. W.; SANJUAN, T.; ZARE, R.; CHEN, M.; LI, Z.; ROSSMAN, A. Y.; SPATAFORA, J.; SHERSTHA, B. A phylogenetically-based nomenclature for Cordycipitaceae (Hypocreales). **IMA Fungus**, v. 8, p. 335-353, 2017.

KLEINKAUF, H.; VON DÖHREN, H. Biosynthesis of peptide antibiotics. **Annual Review of Microbiology**, v. 41, p. 259-289, 1987.

KLEINKAUF, H.; VON DÖHREN, H. Review: nonribosomal biosynthesis of peptide antibiotics. In: FEDERATION OF EUROPEAN BIOCHEMICAL SOCIETIES; CHRISTEN, P.; HOFMANN, E. (Ed.). **EJB Reviews 1990**. Berlin, Germany: Springer, 1990. p. 151-165.

LACEY L. **Microbial control of insect and mite pests**: from theory to practice. San Diego: Academic Press, 2017. 461 p.

LACEY, L.; GRZYWACZ, D.; SHAPIRO-ILAN, D. I.; FRUTOS, R.; GOETTEL, M. S.; BROWNBIDGE, M. Insect pathogens as biological control agents: back to the future. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 132, p. 1-41, Nov. 2015. DOI: 10.1016/j.jip.2015.07.009

LASTRA, C. C. L.; GIBSON, D. M.; HAJEK, A. E. Survival and differentiation development of *Entomophga maimaiga* and *Entomophaga aulicae* (Zygomycetes: Entomophthorales) in *Lymantria dispar* hemolymph. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 74, n. 4, p. 201-209, Nov. 2001. DOI: 10.1006/jipa.2001.5069

LEFORT, M. C.; MCKINNON, A. C.; NELSON, T. L.; GLARE, T. R. Natural occurrence of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* as a vertically transmitted endophyte of *Pinus radiata* and its effect on above-below-ground insect pests. **New Zealand Plant Protection**, v. 69, p. 68-77, 2016.

LI, Z.; ALVES, S. B.; ROBERTS, D.; FAN, M.; DELALIBERA, I.; TANG, J.; LOPES, R. B.; FARIA, M.; RANGEL, DEN. Biological control of insects in Brazil and China: history, current programs and reasons for their successes using entomopathogenic fungi. **Biocontrol Science & Technology**, v. 20, n. 2, p. 117-136, 2010. DOI: 10.1080/09583150903431665.

LIANG, Z-Q.; LIU, A-Y.; LIU, J-L. A new species of the genus *Cordyceps* and its *Metarhizium* anamorph. **Acta Mycologica Sinica**, v. 10, p. 257-262, 1991.

LICHTWARDT, R. W. Trichomycetes: fungi in relationship with insects and other arthropods. **Symbiosis**, v. 4, p. 575-588, 2004.

LOPES, R. B.; LAUMANN, R. A.; BLASSIOLI-MORAES, M. C.; BORGES, M.; FARIA, M. The fungistatic and fungicidal effects of volatiles from metathoracic glands of soybean-attacking stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae) on the entomopathogen *Beauveria bassiana*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 132, p. 77-85, Nov. 2015. DOI: /10.1016/j.jip.2015.08.011.

LORD, J. C. From Metchnikoff to Monsanto and beyond: the path of microbial control. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 89, p. 19-29, 2005. DOI: 10.1016/j.jip.2005.04.006.

LORD, J. C.; HOWARD, R. W. A proposed role for the cuticular fatty amides of *Liposcelis bostrychophila* (Psocoptera: Liposcelidae) in preventing adhesion of entomopathogenic fungi with dry-conidia. **Mycopathologia**, v. 158, p. 211-217, 2004.

McINNES, A. G.; SMITH, D. G.; WAT, C. K.; VINNING, L. C.; WRIGHT, J. L. C. Tenellin and bassianin, metabolites of *Beauveria* species. Structure elucidation with ¹⁵N- and doubly ¹³C- enriched compounds using ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Journal of Chemical Society, Chemical Communications**, v. 8, p. 281-282, 1974.

MENG, X.; HU, J.; XU, X.; WANG, Z.; HU, Q.; JIN, F.; REN, S. Toxic effect of destruxin A on abnormal wing disc-like (SLAWD) in *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae). **PLoS ONE**, v. 8, n. 2, Feb. 2013. e57213. DOI: 10.1371/journal.pone.0057213.

MESSELINK, G.; INGEGNO, B. L. Recommended future research for biological control in greenhouse vegetable crops. **BioGreenhouse**, n. 16, Mar. 2016. DOI: 10.18174/373608.

MOMMAERTS, V.; SMAGGLE, G. Entomovectoring in plant protection. **Arthropod-Plant Interaction**, v. 5, p. 81-95, Jan. 2011.

MUKAWA, S.; TOOYAMA, H.; IKEGAMI, T. Influence of humidity on the infection of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae), by *Beauveria bassiana*. **Applied Entomology and Zoology**, v. 46, n. 2, p. 255-264, May 2011.

NOURISSON, C.; DUPONT, D.; LAVERGNE, R. A.; DORIN, J.; FOROUZANFAR, F.; DENIS, J.; WEEKS, K.; JOUBERT, R.; CHIAMBARETTA, F.; BOUCIER, T.; ROUX, S.; SÉNÉCHAL, A.; BENAÏM, G.; WALLON, M.; CANDOLFI, E.; LETSCHER-BRU, V.; POIRIER, P.; SABOU, M. Species of *Metarhizium anisopliae* complex implicated in human infections: retrospective sequencing study. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 23, n. 12, p. 994-999, Dec. 2017. DOI: 10.1016/j.cmi.2017.05.001.

OPPENHEIM, S. Alternative agriculture in Cuba. **American Entomologist**, v. 47, n. 4, p. 216-227, 2001.

REHNER, S. A.; BUCKLEY, E. A. *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1- α sequences: evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps* teleomorphs. **Mycologia**, v. 97, p. 84-98, Jun. 2011. DOI: 10.1080/15572536.2006.11832842.

ROY, H. E.; STEINKRAUS, D. C.; EILENBERG, J.; HAJEK, A. E.; PELL, J. K. Bizarre interactions and endgames: entomopathogenic fungi and their arthropod hosts. **Annual Review of Entomology**, v. 51, p. 331-357, Jan. 2006. DOI: 10.1146/annurev.ento.51.110104.150941.

SÁNCHEZ-PÉREZ, L. C.; BARRANCO-FLORIDO, J. E.; RODRÍGUEZ-NAVARRO, S.; CERVANTES-MAYAGOITIA, J. F.; RAMOS-LÓPEZ, M. Á. Enzymes of entomopathogenic fungi, advances and insights. **Advances in Enzyme Research**, v. 2, n. 2, p. 65-76, 2014. DOI: 10.4236/aer.2014.22007,

SHIMAZU, M. Use of microbes for control of *Monochamus alternatus*, vector of the invasive pinewood nematode. In: AJEK, A. E.; GLARE, T. R.; O'CALLAGHAN, M. (Ed.). **Use of microbes for control and eradication of invasive arthropods**. [London]: Springer, 2009. p. 141-157.

SHIMIZU, S.; YAMJI, M. Effect of density of the termite, *Reticulitermes speratus* Kolbe (Isoptera: Rhinotermitidae), on the susceptibilities to *Metarhizium anisopliae*. **Applied Entomology and Zoology**, v. 38, p. 125-130, 2003. DOI: 10.1303/aez.2003.125.

SIMÕES, R. A.; REIS, L. G.; BENTO, J. M. S., SOLTER, L. F., DELALIBERA, I. Biological and behavioral parameters of the parasitoid *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) are altered by the pathogen *Nosema* sp. (Microsporidia: Nosematidae). **Biological Control**, v. 63, n. 2, p. 164-171, 2012. DOI:10.1016/j.biocontrol.2012.06.012

SINGH, D.; SON, S. Y.; LEE, C. H. Perplexing metabolomes in fungal-insect trophic interactions: a *Terra incognita* of micobiocontrol mechanisms. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1-13, Oct. 2016. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01678.

SMAGGHE, G.; MOMMAERTS, V.; HOKKANEN, H.; MENZLER-HOKKANEN, I.; Multitrophic interactions: the entomovector technology. In: SMAGGHE, G.; DIAZ, I. (Ed.). **Arthropod-Plant Interactions: novel insights and approaches for IPM**. Berlin: Springer, 2012. p. 127-157. (Progress in Biological Control, 14).

SMAGGHE, G.; MEYER, L. D.; MEEUS, I.; MOMMAERTS, V. Safety and acquisition potential of *Metarhizium anisopliae* in entomovectoring with bumblebees, *Bombus terrestris*. **Horticultural Entomology**, v. 106, p. 277-282, 2013. DOI: 10.1603/EC12332.

SOSA-GOMEZ, D. R.; BOUCIAS, D. G.; NATION, J. L. Attachment of *Metarhizium anisopliae* to the southern green stink bug *Nezara viridulai* cuticle and fungistatic effect of cuticular lipids and aldehydes. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 69, p. 31-39, Jan. 1997. DOI:/10.1006/jipa.1996.4619.

St. LEGER, R. J.; FRANK, D. C.; ROBERTS, D. W.; STAPLES, R. C. Molecular-cloning and regulatory analysis of the cuticle-degrading protease structural gene from the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **European Journal of Biochemistry**, v. 204, p. 991-1001, 1992. Mar DOI: 10.1111/j.1432-1033.1992.tb16721.x.

STRASSER, H.; VEY, A.; BUTT, T. M. Are there any risks in using entomopathogenic fungi for pest control, with particular reference to the bioactive metabolites of *Metarhizium*, *Tolypocladium* and *Beauveria* species? **Biocontrol Science and Technology**, v. 10, n. 6 p. 717-735, 2000. DOI: 10.1080/09583150020011690.

SUZUKI, A.; KANAOKA, M.; ISOGAI, A.; TAMURA, S.; MURAKOSHI, S.; ICHINOE, M. Bassianolide, a new insecticidal cyclodepsipeptide from *Beauveria bassiana* and *Verticillium lecanii*. **Tetrahedron Letters**, v. 18, n. 25, p. 2167-2170, 1977. DOI: 10.1016/S0040-4039(01)83709-6.

TURNER, G. Exploitation of fungal secondary metabolites old and new. **Microbiology Today**, v. 27, n. 3, p. 118-121, 2000.

ULRICH, K. R.; FELDLAUFER, M. F.; KRAMER, M.; St. LEGER, R. J. ST. Inhibition of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* sensu lato *in vitro* by the bed bug defensive secretions (*E*)-2-hexenal and (*E*)-octenal. **BioControl**, v. 60, n. 4, p. 517-526, 2015.

VÁSQUEZ-MORENO, L. L.; FIGUEROA, S. C.; PÉREZ, A. C.; MICHELENA, J. G.; GARCÍA, J. L. A.; FERNÁNDEZ, A. R.; BARRIOS, M. B.; RAMÍREZ, L. A. R.; SÁNCHEZ, R. G.; SANTOS, T. C.; MOLINEDA, M. F.; RODRÍGUEZ, M. P.; CAMPBELL, I. E.; CARDONA, L. L.; PEÑA, E. C.; TORRES, T. R.; SUÁREZ, O. C. Diagnóstico de la utilización de entomófagos y entomopatógenos para el control biológico de insectos por los agricultores en Cuba. **Fitosanidad**, v. 14, n. 3, p. 159-169, Jul./Set. 2010.

VINING, L. C.; KELLEHER, W. J.; SCHWARTING, A. E. Oosporein production by a strain of *Beauveria bassiana* originally identified as *Amanita muscaria*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 8, p. 931-933, 1962.

WANG, C.; St. LEGER, R. J. A collagenous protective coat enables *Metarhizium anisopliae* to evade insect immune responses. **Proceedings of the National Academy of Science**, v. 103, p. 6647-6652, 2006.

WANG, C.; St. LEGER, R. J. ST. The MAD1 adhesin of *Metarhizium anisopliae* links adhesion with blastospore production and virulence to insects, and MAD2 adhesin enables attachment to plants. **Eukaryotic cell**, v. 6, p. 808-816, 2007.

WANG, Z. L.; ZHANG, L. B.; YING, S. H.; FENG, M-G. Catalases play differentiated roles in the adaptation of a fungal entomopathogen to environmental stresses. **Environmental Microbiology**, v. 15, n. 2, p. 409-418, 2013. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2012.02848.x

WARD, M. D.; CHUNG, Y. J.; COPELAND, L. B.; DOERFLER, D. L. Allergic responses induced by a fungal biopesticide *Metarhizium anisopliae* and house dust mite are compared in a mouse model. **Journal of Toxicology**, Art. ID 360805, Apr. 2011. DOI: 10.1155/2011/360805.

WESTWOOD, G. S.; HUANG, S. W.; KEYHANI, N. O. Allergens of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. **Clinical and Molecular Allergy**, v. 3, n. 1, p. 1-10, Jan. 2005.

WESTWOOD, G. S.; HUANG, S. W.; KEYHANI, N. O. Molecular and immunological characterization of allergens from the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. **Clinical and Molecular Allergy**, v. 4, p. 12, 2006.

YANAGAWA, A.; FUJIWARA-TSUJII, N.; AKINO, T.; YOSHIMURA, T.; YANAGAWA, T.; SHIMIZU, S. Odor aversion and pathogen-removal efficiency in grooming behavior of the termite *Coptotermes formosanus*. **PLoS One**, v. 7, 2012. DOI: 10.1371/journal.pone.0047412.

YANAGAWA, A.; YOKOHARI, F.; SHIMIZU, S. Defense mechanism of the termite, *Coptotermes formosanus* Shikari, to entomopathogenic fungi. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 97, n. 2, p. 165-170, Feb. 2008. DOI: 0.1016/j.jip.2007.09.005.

YANGAWA, A.; YOKOHARI, F.; SHIMIZU, S. The role of antennae in removing entomopathogenic fungi from cuticle of the termite, *Coptotermes formosanus*. **Journal of Insect Science**, v. 9, n. 6, p. 1-9, Feb. 2009.

ZIMMERMANN, G. Review on safety of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 17, p. 879-920, Mar. 2007. DOI: 10.1080/09583150701593963.

CAPÍTULO 8

Controle de artrópodes-praga com vírus entomopatogênicos

Maria Elita Batista de Castro
Bergmann Morais Ribeiro
Saluana Rocha Craveiro
Peter Ward Inglis
Fernando Hercos Valicente

Os animais invertebrados, que são desprovidos de coluna vertebral, constituem a grande maioria (97%) das espécies de animais distribuídas em todo o planeta, entre os quais os insetos representam o grupo de maior diversidade (Rafael et al., 2012; Stork, 2018). Como os seres vivos em geral, os invertebrados são suscetíveis a vírus, que podem causar doenças e resultar em morte precoce de seus hospedeiros.

Os vírus, que constituem um grupo de parasitas intracelulares obrigatórios, utilizam a estrutura de uma célula hospedeira para replicar seu material genético e apresentam grande capacidade de multiplicação, sendo provavelmente capazes de infectar todas as formas celulares de vida (Simmonds et al., 2017). Esses agentes infecciosos são microscópicos, não possuem estrutura celular nem metabolismo próprio, sendo formados, basicamente, de um só tipo de ácido nucléico, DNA ou RNA (podendo ser de fita simples ou dupla), e proteínas.

Alguns vírus são chamados de envelopados por possuírem seus nucleocapsídeos (ácido nucléico e capsídeo) envolvidos por uma membrana rica em lipídios, derivada da célula hospedeira, formando um envelope disposto em uma ou várias morfologias. Os vírus que não possuem essa membrana são chamados de não envelopados.

CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS E ECOLÓGICAS

Entre as famílias ou grupos de vírus de invertebrados descritos, os baculovírus são os mais documentados e reconhecidos como patogênicos para insetos (Harrison et al., 2018). O nome baculovírus é derivado da morfologia dos nucleocapsídeos em forma de bastão (báculo, do latim *baculum*, significa bastão, haste). Os baculovírus são genética e morfologicamente distintos de outras famílias de vírus de invertebrados e constituem o maior grupo de vírus conhecido que ataca insetos, predominantemente os da ordem Lepidoptera (borboletas e mariposas) (Federici, 1997). São considerados na história evolutiva tão antigos quanto os insetos holometábolos (apresentam metamorfose completa em seu desenvolvimento) (Thézé et al., 2011). Esses vírus foram descobertos desde o desenvolvimento da indústria da seda na China, no século 16, quando foram considerados responsáveis por uma doença do bicho-da-seda [*Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae)] chamada de amarelidão (*jaundice*), que causa a morte das lagartas (Rohrmann, 2019). Com o surgimento dos primeiros microscópios ópticos e mais tarde com a microscopia eletrônica, verificou-se que amostras provenientes de insetos doentes encontrados em criadores do bicho-da-seda comumente apresentavam corpos altamente refráteis de estrutura poliédrica. As doenças associadas a esse tipo de estrutura viral foram então denominadas de poliedroses, e sua transmissão pode ocorrer por meio desses corpos quando presentes nos alimentos do inseto, na superfície de seus ovos (transmissão horizontal) e dentro do óvulo de adultos infectados (transmissão vertical). Outras formas de transmissão viral são aquelas que ocorrem experimentalmente por injeção de partículas virais em hospedeiros sadios e infecção ou transfecção de DNA viral em células de insetos em cultura.

A tendência de que uma doença causada por baculovírus se torne uma epizootia (doença generalizada que ocorre em uma população animal, no caso insetos) depende da escala de dispersão e da persistência do vírus dentro e fora do hospedeiro, o que requer várias gerações do hospedeiro para se desenvolver. Larvas mortas representam relevante fonte de inóculo para ocorrência e manutenção de epizootia em populações endêmicas. Outros insetos e pássaros podem se alimentar desses insetos hospedeiros mortos e promover a dispersão de partículas virais no ambiente ou ainda para locais mais distantes. Um exemplo dessa forma de dispersão e/ou transmissão de vírus para novos hospedeiros é a interação passiva do vírus com outros insetos. Ao consumirem hospedeiros infectados por vírus, insetos predadores não dissolvem as partículas virais e, muitas vezes, essas partículas são liberadas pelas fezes durante vários dias e bem distantes do local da infecção. Outro exemplo é o caso das vespas parasitoides que podem atuar como vetores quando picam um inseto infectado, intro-

duzindo o vírus em hospedeiros susceptíveis durante subsequente oviposição. Essas partículas, corpos de oclusão, que se apresentam de forma ambientalmente estável, persistem no solo em estado dormente, porém viáveis, e permitem sua sobrevivência por décadas. O solo constitui um importante reservatório de vírus no meio ambiente (Fuxa, 2004). Dessa forma, a migração de insetos e as flutuações populacionais do hospedeiro são eventos que influenciam fortemente a persistência do vírus no campo, assumindo, portanto, um papel importante na ecologia dos baculovírus.

A dinâmica populacional de insetos tem sido pouco explorada quando se consideram, de forma mais ampla, os mecanismos de interações entre patógeno e hospedeiro ou ainda os impactos desses patógenos sobre as populações de insetos no campo. No entanto, a ação e as influências de parasitoides, predadores e patógenos na manutenção da densidade da praga abaixo do limiar de dano econômico ou na redução de seus surtos têm sido conhecidas e documentadas (Fleming-Davies et al., 2015; Kennedy; Dwyer, 2018).

Os baculovírus são bem conhecidos pela sua utilidade como agentes de controle biológico (Moscardi, 1999) e pela sua versatilidade como vetores de expressão em aplicações biotecnológicas (Kost et al., 2005). Na biotecnologia, esses vírus têm sido usados para produção de proteínas recombinantes, transdução de células de mamíferos, terapia gênica e produção de vacinas. No controle biológico, esses patógenos vêm atuando, historicamente, como reguladores de populações de pragas e, em vários casos, têm sido desenvolvidos para uso como inseticidas biológicos em sistemas de manejo integrado de pragas (MIP). Diante da importância cada vez mais crescente do uso de produtos mais saudáveis e sustentáveis, esses agentes de controle biológico têm se tornado uma atraente alternativa de uso quando comparados aos inseticidas químicos em vários sistemas agrícolas e florestais. Na maioria dos casos, os baculovírus são bastante eficientes por serem altamente virulentos e específicos para os hospedeiros, além de seguros para a saúde humana e o meio ambiente, pois não causam impactos negativos sobre plantas, mamíferos, pássaros, peixes ou mesmo insetos não alvos. Desde o início do uso comercial de baculovírus no controle biológico de pragas, testes de segurança têm sido feitos e nenhum problema de saúde ou ambiental foi documentado (Burgess et al., 1980a, 1980b; Lapointe et al., 2012). Diante disso, os baculovírus têm sido incluídos em listas de agentes de biocontrole de baixo risco, a exemplo do descrito em um documento da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE) (Organisation for Economic Co-Operation and Development, 2002).

Os baculovírus possuem genoma de DNA circular de fita dupla com tamanho que, dependendo da espécie, varia de 80 kb a 180 kb e contém entre 89 a 183 fases abertas de leitura (ORFs – do inglês *open reading frames*) preditas (*Neodiprion lecontei*

NPV e *Pseudaletia unipuncta* GV, respectivamente) em ambas as fitas e orientações (sentido horário e anti-horário). O DNA associado a uma estrutura proteica forma os nucleocapsídeos, cujo comprimento varia de 250 nm a 300 nm e o diâmetro de 30 nm a 60 nm, os quais, quando envoltos em uma bicamada lipídica, constituem partículas infectivas completas chamadas de vírions. A variedade total de genes encontrados nos baculovírus é de, aproximadamente, 900 genes, entre os quais estão os genes conservados em todos os baculovírus (denominados *core genes*). Atualmente, já foram identificados 38 *core genes* presentes nos genomas de todos os baculovírus até então sequenciados (Garavaglia et al., 2012; Javed et al., 2017; Boogaard et al., 2018) (Tabela 1). Os *core genes* são genes ancestrais e altamente conservados, os quais representam 3% do conteúdo genético viral. Esses genes estão envolvidos nos diferentes estágios do ciclo viral (replicação do DNA, transcrição do RNA, composição proteica das partículas virais, interação com proteínas dos hospedeiros, infectividade oral, entre outros). Quando comparados aos outros, os *core genes* possuem menor tolerância às mutações, o que pode implicar a perda da viabilidade viral, já que estão envolvidos em processos essenciais para a infecção (Herniou et al., 2003; Miele et al., 2011; Ferrelli et al., 2012).

Além das mutações pontuais no genoma dos baculovírus, bem como nos outros vírus de DNA, a recombinação homóloga, a perda e duplicação de genes e a transferência lateral de genes, entre outros vírus, bactérias ou células eucarióticas, são os principais mecanismos responsáveis pela variação dos genomas (Shackelton; Holmes, 2004). Há vários estudos que relatam a aquisição dos baculovírus, por transferência horizontal, de genes provenientes do inseto hospedeiro, o que demonstra o alto nível de plasticidade do genoma desses vírus (Aragão-Silva et al., 2016; Harrison et al., 2016). Mutações pontuais, substituições, inserções e deleções ocorrem por todo genoma, mas se concentram em regiões específicas que representam *hot spots* de hipervariabilidade, que ocorrem, geralmente, nas regiões de repetição homóloga (*hrs* – do inglês *homologous repeat regions*) e nas ORFs repetidas dos baculovírus (*bro* – do inglês *baculovirus repeated orf*) (Hayakawa et al., 2000; de Jong et al., 2005). As *hrs* são regiões intergênicas formadas por sequências repetitivas que podem funcionar como ativadores de transcrição da RNA polimerase II ou origens de replicação do DNA viral (Guarino; Summers, 1986; Pearson et al., 1992; Hilton; Winstanley, 2007). Os genes *bro* constituem uma família de múltiplos genes encontrados nos baculovírus e em outros vírus de invertebrados de DNA de fita dupla (entomopoxvirus e iridovirus). Esses genes possuem funções diversas, mas pouco conhecidas, com relatos do seu envolvimento no processo de replicação de DNA e/ou regulação da transcrição do hospedeiro e atuação como fator de replicação viral na fase tardia (Bideshi et al., 2003).

Tabela 1. Genes conservados em todos os baculovírus (*core genes*) e sua posição no genoma de *Autographa californica nucleopolyhedrovirus* (AcMNPV).

Função	Gene	AcMNPV (ORF ⁽¹⁾)
Replicação/processamento de DNA	<i>lef-1</i>	14
	<i>lef-2</i>	6
	<i>DNA polymerase</i>	65
	<i>helicase</i>	95
	<i>alkaline nuclease</i>	133
Transcrição/RNA polimerase	<i>lef-4</i>	90
	<i>lef-5</i>	50
	<i>lef-8</i>	62
	<i>lef-9</i>	40
	<i>p47</i>	99
	<i>vlf-1</i>	77
Genes estruturais	<i>p6.9</i>	100
	<i>vp39</i>	89
	<i>vp1054</i>	54
	<i>vp91/p95</i>	83
	<i>gp41</i>	80
	<i>odv-ec43</i>	109
	<i>p49</i>	142
	<i>odv-e18</i>	143
	<i>desmoplakin</i>	66
	<i>odv-e27</i>	144
Fatores de infectividade oral	<i>pif-0/p74</i>	138
	<i>pif-1</i>	119
	<i>pif-2</i>	22
	<i>pif-3</i>	115
	<i>pif-4/19k/odv-e28</i>	96
	<i>pif-5/odv-e56</i>	148
	<i>pif-6</i>	68
	<i>pif-7</i>	110
Enzimas	<i>pif-8</i>	83
	<i>38k phosphatase</i>	98
	<i>p33</i>	92
Outras	<i>ubiquitin</i>	53
	<i>Ac78</i>	78
	<i>Ac81</i>	81
	<i>Ac93</i>	93
	<i>Ac101</i>	101
	<i>Ac103</i>	103

⁽¹⁾ *Open reading frame* (fase aberta de leitura).

Os genes de baculovírus não estão agrupados no genoma de acordo com sua função ou momento da transcrição. Entretanto, a expressão gênica ocorre em uma sequência temporal, e esse processo é altamente regulado pelos mecanismos da infecção e/ou por proteínas virais e do hospedeiro. Os genes são transcritos de forma gradual, ordenada e em cascata, assegurando a progressão da infecção para as fases seguintes. A expressão dos genes ocorre em três fases sucessivas que são denominadas precoce (*early*), tardia (*late*) e muito tardia (*very late*). Os genes transcritos no estágio precoce da infecção são precedidos por promotores com motivos TATA-box e/ou CAGT, que são reconhecidos e são transcritos pela RNA polimerase do inseto hospedeiro. Já os genes expressos nas fases tardias são transcritos pela RNA polimerase viral. Entretanto, muitos genes contêm promotores que são reconhecidos por ambos RNA polimerase II do inseto hospedeiro e RNA polimerase viral, sendo expressos durante toda a infecção.

A primeira sequência completa de genoma de baculovírus publicada foi a de *Autographa californica multiple nucleopolyhedrovirus* (AcMNPV) (Ayres et al., 1994). Desde então, particularmente com a adoção popular de tecnologia de sequenciamento de nova geração, a publicação de novos genomas de baculovírus foi bastante acelerada, o que tem proporcionado melhor entendimento acerca da biologia molecular desses vírus. Cerca de 83 espécies de baculovírus têm seus genomas sequenciados e depositados em um dos maiores bancos de dados, o GenBank do National Center for Biotechnology Information (NCBI).

TAXONOMIA, DIVERSIDADE E EVOLUÇÃO

As regras que regem a classificação taxonômica e a nomenclatura dividem os vírus de invertebrados hierarquicamente em família, gênero e espécie. A definição formal para espécie viral foi modificada, e o termo passou a ser definido como “um grupo monofilético, cujas propriedades podem ser distinguidas entre uma espécie e outra por múltiplos critérios” tendo sido o termo “múltiplos critérios”, historicamente, interpretado e atribuído às diversas características relacionadas aos seguintes aspectos: replicação, faixa de hospedeiros, tropismo por células e tecidos, patogenicidade, modo de transmissão, antigenicidade e grau de parentesco de seus genomas ou genes (Peterson, 2014). Esse conceito foi formalizado pelo International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) (Adams et al., 2017; Lefkowitz et al., 2018), que regulariza e organiza periodicamente a classificação taxonômica universal para os vírus.

A família *Baculoviridae* foi inicialmente dividida em *Nucleopolyhedrovirus* (NPV) e *Granulovirus* (GV), com base nas diferenças morfológicas dos corpos de oclusão: *occlusion bodies* (OBs) e *occlusion derived viruses* (ODVs) (Figura 1). Com a realização de estudos filogenéticos e moleculares, uma nova classificação taxonômica foi dada aos baculovírus, e a família *Baculoviridae* foi dividida em quatro gêneros de acordo com a ordem de seus insetos hospedeiros (Jehle et al., 2006; Herniou et al., 2012; Harrison et al., 2018). O gênero *Alphabaculovirus* inclui NPVs específicos de lepidópteros, com OBs de forma poliédrica de 0,15 µm a 5,00 µm e genoma de 80 kpb a 180 kpb. O *Betabaculovirus* inclui os GVs específicos de lepidópteros, com OBs de forma ovocilíndrica de aproximadamente 0,12 µm x 0,50 µm de diâmetro e genoma de tamanho semelhante ao do gênero *Alphabaculovirus*. O *Gammabaculovirus* inclui os vírus específicos de himenópteros e atualmente é constituído por *N. lecontei* NPV (NeleSNPV), *Neodiprion sertifer* NPV (NeseSNPV) e *Neodiprion abietis* NPV (NeabNPV), com OBs de 0,4 µm a 1,1 µm e genoma menor que o dos outros baculovírus (82 kpb a 86 kpb) (Jehle et al., 2006). O *Deltabaculovirus* inclui os vírus específicos de dípteros atualmente representados pelo CuniNPV com OBs de 0,4 µm de diâmetro e genoma de 108,252 bp (Afonso et al., 2001). Os *Alphabaculovirus* foram divididos em dois grupos (Grupo I e Grupo II), com base em análises filogenéticas de baculovírus, inicialmente utilizando o gene *polh* (Zanotto et al., 1993) e, mais tarde, genomas completos. Posteriormente, o Grupo I foi subdividido em dois clados: “a” e “b” (Jehle et al., 2006). Esses dois grupos diferem no conteúdo de genes notadamente pelas suas proteínas de fusão de membranas (Monsma et al., 1996; Hefferon et al., 1999; Pearson et al., 2000; Westenberg et al., 2007). Os NPVs do Grupo I usam a GP64 como proteína de fusão, enquanto os NPVs do Grupo II utilizam-se da proteína F para a transmissão de partículas de vírus extracelulares (BVs, do inglês *budded viruses*) entre células do inseto hospedeiro (Ijkel et al., 2000; Pearson et al., 2000). Além disso, os grupos diferem pelo seu conteúdo de genes, pois 11 outros genes (ORFs de AcMNPV: Ac1 - *ptp*, Ac16 - BV-ODV26, Ac27 - *iap-1*, Ac30, Ac42 - *gta*, Ac72, Ac73, Ac114, Ac124, Ac132, Ac151 - *ie2*) podem ser encontrados apenas nos baculovírus do Grupo I (Rohrmann, 2019). No gênero *Gammabaculovirus*, não foram identificados os genes que codificam proteínas constituintes de BVs, proteína F ou GP64, o que sugere a ausência desse fenótipo nesse grupo (Jehle et al., 2006; Harrison et al., 2016). Cada gênero é constituído em torno de uma espécie-tipo, e os representantes para os respectivos gêneros são os seguintes: *A. californica multiple nucleopolyhedrovirus* (*Alphabaculovirus*), *Cydia pomonella granulovirus* (*Betabaculovirus*), *N. lecontei nucleopolyhedrovirus* (*Gammabaculovirus*) e *Culex nigripalpus nucleopolyhedrovirus* (*Deltabaculovirus*).

Os baculovírus têm suas partículas (OB/ODV e BV) de genótipos idênticos e fenótipos diferentes (Figura 1). Os fenótipos diferem quanto aos seguintes aspectos: morfologia e composição proteica, origem dos envelopes virais, modo de penetração na célula hospedeira e infectividade. Dependendo do número de nucleocapsídeos presentes nos ODVs, os NPVs (nucleopoliedrovírus) recebem a designação de *single nucleopolyhedrovirus* (SNPV), quando possuem apenas um nucleocapsídeo, e *multiple nucleopolyhedrovirus* (MNPV), quando possuem múltiplos nucleocapsídeos por envelope, enquanto os GVs (*granulovirus*), em geral, contêm um único nucleocapsídeo por oclusão. No caso do outro tipo de fenótipo (os BVs), essas partículas possuem um único nucleocapsídeo por envelope.

As diferentes espécies de baculovírus são nomeadas, por convenção, pelo nome científico da espécie hospedeira em que o vírus foi encontrado pela primeira vez, seguido pelo tipo de OB: poliedros (*nucleopolyhedrovirus* – NPV) ou grânulos (*granulovirus* – GV). A abreviatura é obtida pelas duas primeiras letras do gênero e do

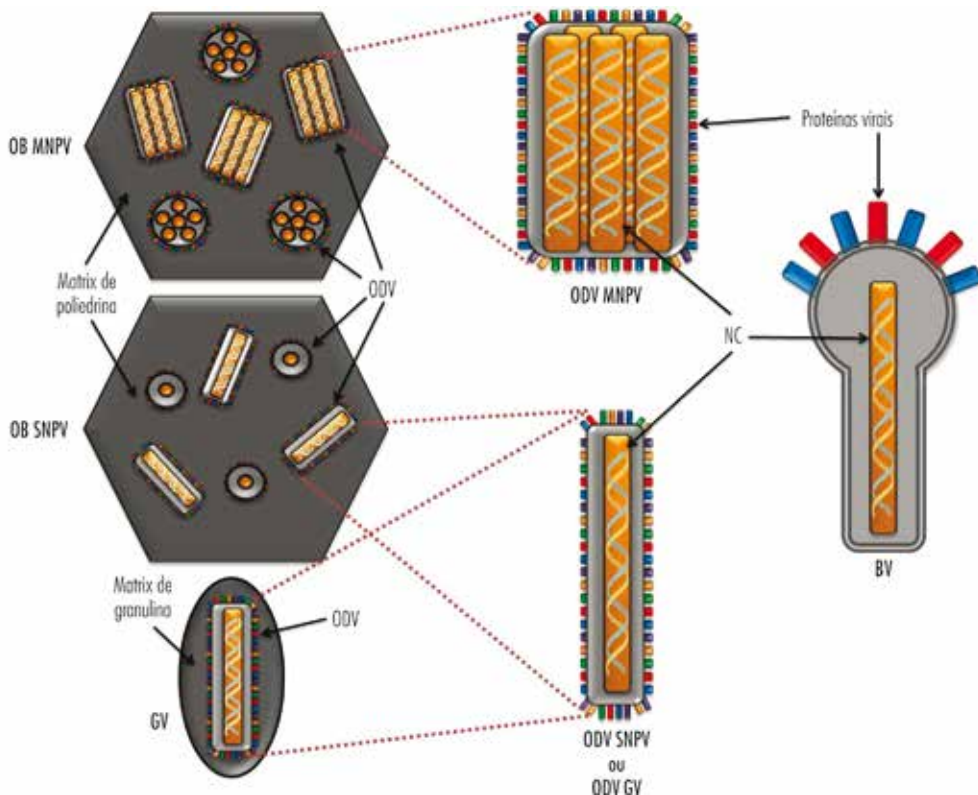


Figura 1. Fenótipos produzidos durante o ciclo de infecção dos Baculovírus. Corpo de oclusão (OB: poliedro ou grânulo); vírus derivado da oclusão (ODV); vírus brotado (BV), também chamado de vírus extracelular; *multiple nucleopolyhedrovirus* (MNPV); *single nucleopolyhedrovirus* (SNPV).

Ilustração: Marina Tagliari.

nome da espécie do inseto, seguidas do tipo do OB (NPV ou GV). Originalmente, os baculovírus foram nomeados pela primeira letra do gênero e da espécie de seu hospedeiro, porém essa designação foi alterada para a atual nomenclatura à medida que os vírus foram sendo descobertos, pois alguns deles infectavam insetos diferentes que tinham nomes com as mesmas primeiras letras, resultando em diferentes vírus com o mesmo descritor. Para maior clareza, seguem exemplos de como atribuir os nomes científicos às espécies de baculovírus com base nas seguintes informações:

- Identificação do inseto hospedeiro: nome científico do hospedeiro do qual o vírus foi isolado pela primeira vez.
- Morfologia da partícula viral (corpo de oclusão) observada por microscopia eletrônica de transmissão.

Exemplos:

Hospedeiro: *Chrysodeixis includens* (Walker)

Tipo de partícula viral: poliedros – *nucleopolyhedrovirus* (NPV)

Nome da espécie viral: *Chrysodeixis includens nucleopolyhedrovirus*

Abreviatura: ChinNPV

Hospedeiro: *Plutella xylostella* (L.)

Tipo de partícula viral: grânulos – *granulovirus* (GV)

Nome da espécie viral: *Plutella xylostella granulovirus*

Abreviatura: PlxyGV

Essa atual regra para abreviaturas não foi adotada para os primeiros baculovírus descritos na literatura, portanto a convenção histórica tem sido mantida para representantes dos vários vírus da família *Baculoviridae*, como, por exemplo, *A. californica multiple nucleopolyhedrovirus* (AcMNPV) e *C. pomonella granulovirus* (CpGV).

Diversidade e evolução da família *Baculoviridae*

Uma grande diversidade de vírus de invertebrados tem sido documentada, e os mais estudados são os *ascovirus*, *iridovirus*, *polydnavirus*, *cypovirus*, *entomopoxvirus* e *baculovirus*. Entre esses, os baculovírus têm-se destacado como um dos principais vírus entomopatogênicos com grande potencial no manejo integrado de insetos-pragas.

Os baculovírus são vírus específicos de artrópodes e são os únicos que não possuem homologia com vírus encontrados em outros organismos, como animais, plantas, fungos e bactérias (Ikeda et al., 2015). Esses vírus possuem alta diversidade em relação ao tamanho, organização e conteúdo gênico entre seus genomas, e essa alta variação genômica reflete claramente na diversidade fenotípica observada entre os quatro gêneros da família *Baculoviridae* (Ikeda et al., 2015). Além da marcante diferença morfológica entre partículas OBs de *granulovirus* e *nucleopolyhedrovirus* encontrada nos baculovírus específicos de lepidópteros, variações fenotípicas são também observadas entre NPVs que infectam diferentes ordens de insetos. Nos *Alphabaculovirus*, a infecção celular ocorre em praticamente todos os tecidos do inseto hospedeiro, enquanto os *Gammabaculovirus* e os *Deltabaculovirus* apresentam infecção e replicação do vírus restritas às células do intestino médio do inseto (Katsuma et al., 2012). Outro exemplo é *C. nigripalpus* NPV (CuniNPV), que não contém genes homólogos às proteínas poliedrina/granulina e possui uma proteína de 90 kDa com formas globulares para as partículas OBs e não poliédricas como nos demais NPVs (Afonso et al., 2001).

Como já foi dito, há uma alta diversidade genética entre as diferentes espécies virais. Nos baculovírus, além dessa diversidade interespecífica, verifica-se grande variabilidade genética intraespecífica. Variações genéticas encontradas em uma mesma população são altamente frequentes e facilmente mantidas por causa da característica típica dos baculovírus de concentrar mais de um genótipo em uma única partícula viral, como o que ocorre nos NPVs que possuem vários nucleocapsídeos oclusos em um único poliedro (Herniou; Jehle, 2007; Clem; Passarelli, 2013). As variantes genotípicas, que são facilmente detectadas por análises de *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP), geralmente exibem variações no fenótipo, as quais estão principalmente relacionadas à patogenicidade, ao tempo de morte e à produção de partículas BVs e OBs (Cory et al., 2005; Ogembo et al., 2007; Harrison et al., 2008; Alexandre et al., 2010). A heterogeneidade de fenótipos é comumente mantida em populações de campo e, em razão disso, acredita-se que a diversidade genética traz vantagens quanto à adaptação, à evolução e ao tempo de sobrevivência do baculovírus no campo.

Além dos baculovírus, outros vírus de insetos como o *entomopoxvirus* (EPV) e o vírus da poliedrose citoplasmática (CPV) apresentam vírions oclusos em uma matriz proteica que formam corpos de oclusão que protegem as partículas virais livres no meio ambiente. Entretanto, os baculovírus se diferenciam dos EPVs e CPVs por apresentarem replicação no núcleo da célula infectada, enquanto os demais se replicam no citoplasma.

Vírus similares aos baculovírus quanto à patologia e à morfologia foram relatados como pertencentes à família *Nudiviridae*. Esses vírus também se replicam no núcleo da célula, mas não formam partículas virais oclusas, por isso foram, anteriormente, nomeados como baculovírus não oclusos. O conteúdo genômico dos nudivírus compartilha 20 genes descritos como *core genes* de baculovírus. Apesar da similaridade entre esses dois grupos, análises filogenéticas mostram que os nudivírus formam um grupo monofilético irmão do grupo dos baculovírus, e são os mais proximamente relacionados evolutivamente à família *Baculoviridae* (Thézé et al., 2011; Wang et al., 2011).

A origem evolutiva dos baculovírus pode ser explicada por diferentes hipóteses. Rohrmann (1986) propôs que os baculovírus se originaram com os insetos da ordem Lepidoptera e, por transferência horizontal, atingiram em seguida outras ordens de insetos. Posteriormente, Federici (1997) propôs que a origem dos baculovírus remonta à origem dos artrópodes, com a cladogênese (processo de especiação; ramificação filogenética) do vírus e de seu hospedeiro. Em 2004, Herniou e colaboradores sugeriram uma terceira hipótese, na qual ancestrais dos baculovírus, por transferência horizontal, infectaram diferentes ordens de insetos, e propuseram uma antiga coevolução do vírus com seu hospedeiro, que levou, em seguida, ao progresso da especiação das diferentes linhagens de baculovírus para as diferentes ordens de insetos hospedeiros (Herniou et al., 2004).

Com base em análises genômicas e evolutivas, tem-se admitido que o surgimento dos baculovírus no Carbonífero, período da era Paleozoica, provavelmente tenha ocorrido a partir de ancestrais dos baculovírus que evoluíram com os insetos holometábolos cerca de 310 milhões de anos atrás (Thézé et al., 2011). Tendo em vista que os ancestrais dos vírus já infectavam os primeiros insetos que surgiram no período Devoniano, esses dados sustentam e confirmam a terceira hipótese (Herniou et al., 2004), que sugere uma coevolução dos baculovírus com os insetos hospedeiros. Além disso, acredita-se que a grande diversificação dos vírus ocorreu durante a diversificação das diferentes ordens de insetos durante a era Mesozoica (Thézé et al., 2011), dados que também corroboram a terceira hipótese.

Importância da variabilidade genética e sua conservação

Os baculovírus consistem em uma das mais diversas famílias de vírus, e essa alta variabilidade pode ser decorrente, principalmente, da coevolução e codiversificação do vírus com seu inseto hospedeiro. A variabilidade genética é fundamental para manutenção e evolução de uma espécie em seu habitat natural, evitando sua extinção ao longo do tempo. Mutações favoráveis (benéficas ou vantajosas) podem

se acumular, mediante adaptações evolutivas, enquanto mutações desfavoráveis ou deleções podem levar à redução gradual de sua frequência e resultar até na perda de uma determinada característica ou mesmo de uma espécie na população. Portanto, a preservação da variabilidade genética e genotípica vegetal, animal (incluindo os invertebrados) e de microrganismos tem sido motivo de preocupação constante na conservação e no uso sustentável da biodiversidade.

No caso dos vírus de insetos, essa diversidade pode constituir fator importante para o controle biológico de insetos-praga, por permitir seleção de fenótipos com características específicas favoráveis para uso do vírus como princípio ativo na produção de bioinseticidas.

Nesse contexto, o interesse e a importância na realização de coleta, identificação, guarda e conservação em longo prazo desses recursos genéticos, em condições controladas de reservatórios, bancos genéticos ou coleções, têm sido cada vez mais crescentes no Brasil e no mundo, não sendo diferente para os vírus de invertebrados.

Acervos bastante representativos de isolados de diversas espécies de vírus são mantidos por instituições de pesquisa no Brasil, como, por exemplo, pela Empresa de Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa). Desde 1989, a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia mantém a Coleção de Vírus de Invertebrados (CVI), na qual se encontram isolados de espécies de vírus de insetos de importância agrícola e florestal, caracterizados e armazenados em condições adequadas de conservação de longo prazo. Essa coleção constitui importante fonte de diversidade genética e dá suporte à pesquisa básica nas áreas de patologia de insetos, virologia fundamental, taxonomia e filogenia de vírus de insetos, bem como à pesquisa aplicada na área de controle biológico, criando oportunidades de seleção de vírus com potencial tecnológico e ambiental direcionados ao desenvolvimento de processos, bioinseticidas e outros produtos biotecnológicos. Além disso, o progressivo aumento do número de genomas virais sequenciados e analisados, utilizando-se de ferramentas da bioinformática e dos avanços da genética e genômica molecular, tem trazido inúmeras possibilidades de aplicação em diferentes áreas do conhecimento, gerando ativos de inovação tecnológica e a consequente valoração dos recursos genéticos depositados nas coleções.

MODO DE AÇÃO E CICLO BIOLÓGICO DOS BACULOVÍRUS

Os vírus utilizam as células hospedeiras para se replicarem e se desenvolverem. Ao serem ingeridos ou inoculados no inseto, a célula hospedeira disponibiliza sua maquinaria de autorreprodução celular para fornecer substratos e energia ne-

cessários para a síntese de proteínas virais e ácidos nucleicos virais. Uma série de mudanças comportamentais e morfológicas do inseto ocorre durante o processo de infecção, a começar pela perda de apetite seguida de retardamento do crescimento do inseto e letargia, descoloração e perda do brilho natural do tegumento do inseto por causa da dissolução dos tecidos e do acúmulo de partículas virais, culminando na morte do inseto. Nessa fase final, antes da lise larval, uma característica bastante comum da infecção por baculovírus é a migração do inseto infectado para uma posição mais elevada do galho da árvore ou planta, a fim de facilitar a dispersão dos corpos de oclusão. Esse comportamento do inseto (geotropismo negativo) tem sido atribuído como resultado de um “efeito zumbi” causado pela infecção viral no inseto.

Os baculovírus têm um ciclo biológico bifásico (também chamado ciclo de vida, ciclo de infecção ou replicação) bastante peculiar e que se diferencia de outros vírus por produzir durante a infecção duas formas geneticamente idênticas, porém estrutural e funcionalmente distintas – vírus derivados de corpos de oclusão (ODVs) e vírus extracelulares ou vírus brotados (BVs) –, como mostrado já na Figura 1. Os ODVs são responsáveis pela infecção primária do inseto hospedeiro, enquanto os BVs são liberados das células do hospedeiro e são responsáveis pela propagação da infecção célula a célula, causando infecção sistêmica, que também é chamada de infecção secundária. Os BVs são capazes de propagar a infecção de uma célula para outra dentro do inseto e em cultura de células, “brotando” da membrana basal das células do intestino médio, adquirindo assim um envelope distinto dos ODVs. *Budded viruses* são utilizados para infecções em cultivo de células de insetos e infecção intra-hemocélica por serem milhares de vezes mais infecciosos do que a forma ODV (Keddie; Volkman, 1985; Monsma et al., 1996).

Basicamente, o ciclo de infecção dos baculovírus se inicia quando OBs, que se encontram disseminados na natureza, são ingeridos por larvas de insetos suscetíveis e alcançam o sistema digestivo, onde a matriz protéica das partículas virais é dissolvida, liberando centenas de vírions ODVs que infectam as células epiteliais colunares do intestino do inseto e promovem a infecção primária. Na sequência, os vírions se replicam no núcleo das células, brotam na forma de BV e atingem o sistema traqueal e a hemolinfa, estabelecendo infecções secundárias, então a infecção é disseminada por todo inseto. No estágio final da infecção, a maioria dos nucleocapsídeos são mantidos no núcleo e ficam então oclusos em uma matriz proteica formando os OBs. Cerca de 6 a 8 dias após o início da infecção, a maioria das larvas infectadas morre por causa do acúmulo de OBs formados, seguido de liquefação e rompimento da cutícula larval, com liberação de grande quantidade de poliedros/ou grânulos no meio ambiente (Figura 2). Essas partículas virais liberadas poderão ser consumidas por outras larvas

hospedeiras e dar início a novos ciclos de infecção. Uma sequência de eventos detalhada do processo de infecção está descrita a seguir no tópico Patogênese.

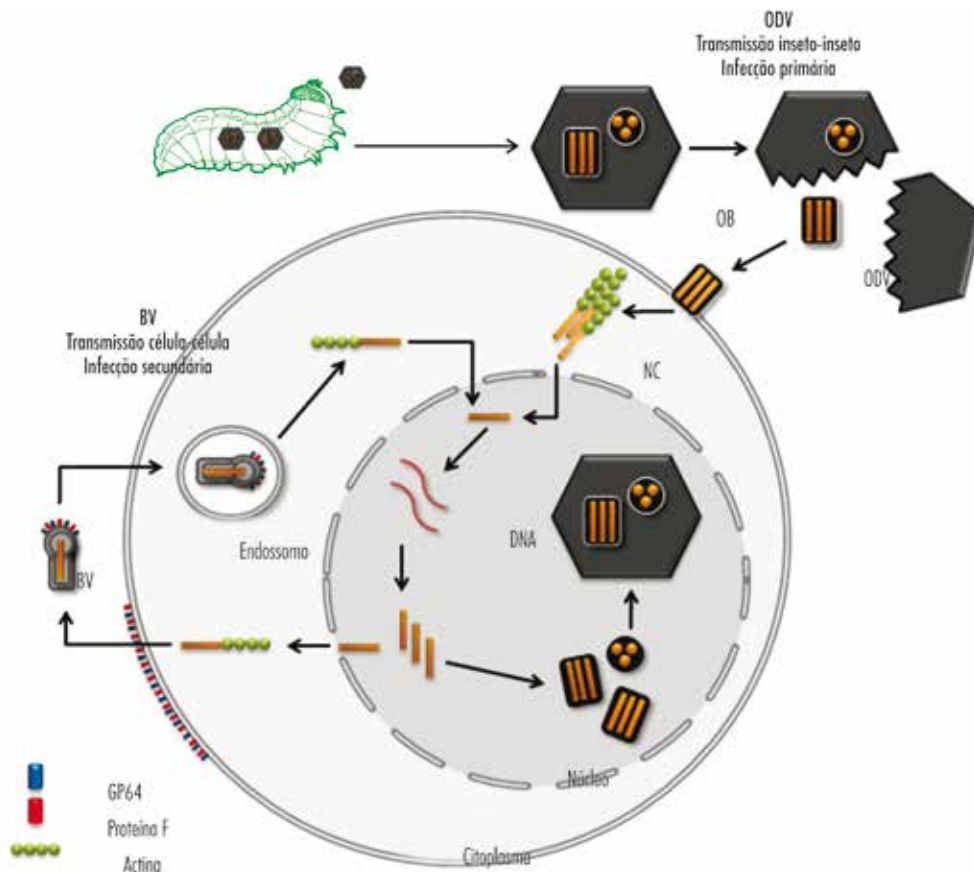


Figura 2. Esquema representativo do ciclo de infecção dos baculovírus: corpos de oclusão (OBs); vírus derivados da oclusão (ODVs); vírus brotados (BV), também chamados de vírus extracelulares.

Ilustração: Marina Tagliari.

PATOGÊNESE E INTERAÇÃO VÍRUS-HOSPEDEIRO

Os vírus são patógenos intracelulares específicos de determinados hospedeiros e podem causar diferentes sintomas, dependendo do tipo de célula que eles infectam. A identificação de vírus de insetos se dá normalmente em larvas infectadas, nas quais é possível identificar mudanças relacionadas à morfologia ou ao comportamento. Por sua vez, a identificação de uma infecção viral pode ser dificultada pela baixa taxa de replicação viral em infecções assintomáticas que não chegam a matar o hospedeiro, causando uma infecção crônica ou latente.

Os insetos da ordem Lepidoptera são, em sua grande maioria, importantes pragas na agricultura. Por essa razão, a maior parte dos estudos de patologia de doenças virais concentra-se nesses insetos. Há relatos de que mais de 700 espécies de insetos foram infectadas naturalmente por baculovírus e mais de 90% dos baculovírus foram isolados a partir de espécies de Lepidoptera, embora possam ser encontrados em outras ordens, como Diptera e Hymenoptera (Herniou; Jehle, 2007). Entre os vírus de insetos, os baculovírus são altamente específicos e virulentos contra seus hospedeiros. Essas características levaram ao desenvolvimento desses vírus como agentes de controle biológico. Por isso, a grande maioria das informações sobre patologia e genômica de vírus de inseto concentra-se nos dados da família *Baculoviridae*.

Os vírus podem ou não ter preferência por determinado tipo de célula. Os baculovírus, por exemplo, podem infectar diferentes tecidos do inseto (alphabaculovírus e betabaculovírus) ou tecidos específicos (alguns betabaculovírus e deltabaculovírus). Os alphabaculovirus infectam praticamente todos os tipos de célula da larva hospedeira, como células musculares, do tegumento, da hemolinfa, dos sistemas digestivo, traqueal e nervoso e do corpo gorduroso. Apenas alguns tecidos, como os túbulos de Malpighi, não apresentam infecção por alguns baculovírus (Cordeiro et al., 2008). Em uma célula suscetível, as alterações morfológicas induzidas pela infecção por baculovírus são as seguintes: arredondamento celular, hipertrofia do núcleo, formação do estroma virogênico, produção de partículas virais e oclusão de parte desses vírus em corpos de oclusão nas fases finais da infecção (Williams; Faulkner, 1997; Pombo et al., 1998).

Entrada dos vírus

A principal rota de entrada de vírus nos insetos é pela via oral (Figura 2). Os insetos adquirem partículas virais durante sua alimentação e, no intestino médio, ocorre o contato dos vírus com as células do inseto. No intestino, o OB ou poliedro é dissolvido pela ação de proteases intestinais e pelo ambiente alcalino ($\text{pH} > 11$) e, como consequência, os vírions são liberados. Entretanto, para chegar até às células colunares do intestino, essas partículas têm de atravessar uma barreira, a membrana peritrófica (MP). A MP é formada pela secreção de quitina e por outros polissacarídeos e proteínas (matriz extracelular) das células intestinais, que formam uma espécie de filtro que permite a passagem do alimento digerido no intestino, separa a camada de células do bolo alimentar e protege contra microrganismos. A MP é um obstáculo à infecção pelos baculovírus (Brandt et al., 1978; Wang; Granados, 1997; Matos et al., 1999), pois o nucleocapsídeo dos baculovírus mede por volta de $30 \text{ nm} - 35 \text{ nm} \times 250 \text{ nm} - 300 \text{ nm}$, enquanto os poros da MP de larvas de lepidópteros podem variar de $7,9 \text{ nm}$ em

Manduca sexta (L.) a 29 η m em *Malacosoma disstria* Hübner (Wolfersberger et al., 1986). Dessa forma, para que os baculovírus alcancem as células colunares, é necessário que a MP seja modificada, permitindo sua passagem. Alguns baculovírus possuem proteínas chamadas de *enhancers*, presentes nos OBs (Wang; Granados, 1997), que são metaloproteínas capazes de degradar glicoproteínas presentes na MP, o que acarretaria a formação de poros nessa membrana. Além disso, os OBs podem conter proteases alcalinas ou quitinases derivadas de bactérias durante a decomposição do corpo do inseto infectado, as quais também poderiam estar envolvidas na formação de poros na MP. Após passar a barreira da MP, os vírions se ligam às células colunares para iniciar a infecção viral. Entretanto, essas células descamam-se constantemente, o que dificulta ainda mais a entrada do vírus (Volkman; Keddie, 1990; Engelhard et al., 1994).

Para entrar nas células do intestino médio, os vírions (ODVs) se ligam às microvilosidades das células colunares do intestino e, com o auxílio das proteínas denominadas de PIFs (do inglês *per os infectivity factors*), ocorre a fusão entre a membrana do ODV e a membrana da célula. Essas proteínas são conservadas entre os baculovírus sequenciados até o momento e formam um complexo com pelo menos nove proteínas na membrana do ODV, o qual é essencial à ligação e à entrada do vírus na célula intestinal (Peng et al., 2010; Javed et al., 2017; Zheng et al., 2017; Rohrmann, 2019). Entretanto, ainda não se conhece o receptor para entrada dos ODVs nessas células. Após entrar na célula, o vírus pode se dirigir ao seu núcleo para iniciar a replicação ou atravessar o citoplasma para a porção basolateral e infectar outra célula (Granados; Lawler, 1981; Washburn et al., 1999) por um mecanismo que envolve a proteína do capsídeo viral P78/83 e o complexo celular Arp2/3, para polimerização de actina, que permite o movimento da partícula viral pelo citoplasma (Ohkawa et al., 2010; Mueller et al., 2014). Foi mostrado experimentalmente que o tegumento das larvas de lepidópteros pode também ser uma via de infecção (Kirkpatrick et al., 1994) após um ferimento ou por mudanças bruscas em temperatura e umidade que, de alguma forma, causem danos à superfície dos insetos e permitam a entrada do vírus pelos espiráculos (Kirkpatrick et al., 1994; Jinn et al., 2009).

Infecção sistêmica

Após a entrada nas células intestinais, o espalhamento da infecção pelo corpo do inseto ocorre com a chegada do vírus no sistema circulatório do inseto (hemolinfa) e/ou respiratório (traqueias), com ou sem prévia replicação viral nas células do intestino (Washburn et al., 1999; Soares; Ribeiro, 2005). Para que isso ocorra, os vírus devem atravessar a lâmina basal (LB) das células intestinais, que é um tipo de matriz extracelular que envolve praticamente todos os tipos de células no corpo dos inse-

tos, com exceção dos hemócitos (Sasaki et al., 2004). A LB é composta de proteínas e polissacarídeos secretados pelas próprias células do tecido e, no caso do intestino dos insetos, separa esse tecido das células da hemolinfa (hemócitos), da traqueia (traqueoblastos) e células musculares, que são os tipos de tecidos que possuem contato direto com esse órgão. Além disso, serve como suporte para a reposição de células mortas e barreira para a entrada de patógenos em outros tecidos do inseto, pois, como descrito para a membrana peritrófica, a LB possui poros menores do que as dimensões das partículas infectivas dos baculovírus (Reddy; Locke, 1990; Passarelli, 2011). Como os componentes da LB estão em constante renovação, essa estrutura é dinâmica e, durante a renovação de seus componentes, pode ocorrer a formação de poros transientes por onde os vírus podem atravessar.

Granados e Lawler (1981) mostraram, por microscopia eletrônica de transmissão, partículas virais de AcMNPV dentro da LB do intestino de larvas de *Trichoplusia ni* (Hübner), poucas horas após a infecção oral. Durante o desenvolvimento embrionário dos insetos, as traqueias são formadas em direção aos diferentes órgãos dos insetos, guiadas pela secreção da proteína FGF dos tecidos em formação (Sutherland et al., 1996). A proteína FGF, que é responsável pela modulação de diferentes processos durante o desenvolvimento dos tecidos em organismos multicelulares, liga-se ao seu receptor na superfície das células e ativa uma cascata de eventos, como proliferação, diferenciação e movimentação celular (Ornitz; Itoh, 2001). A maioria dos vírus dos gêneros *Alpha* e *Betabaculovirus* sequenciados até o momento possui o gene para uma proteína homóloga à FGF, que é denominado de *vfgf*. Interessantemente, a presença desse gene parece estar relacionada à infecção de mais de um tecido, pois os baculovírus (*Delta* e *Gammabaculovirus*), que não possuem esse gene, possuem infecção restrita ao intestino médio das larvas de insetos (Becnel et al., 2001). A VFGF de diferentes baculovírus, que é secretada durante a infecção de células de insetos, é uma proteína capaz de induzir quimiotaxia in vitro de células de inseto derivadas de *Spodoptera frugiperda* (Smith), *T. ni* e *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Detvisitsakun et al., 2005; Katsuma et al., 2006a; Li et al., 2008). A deleção do gene *vfgf* nos baculovírus AcMNPV e em *B. mori nucleopolyhedrovirus* (BmNPV) retarda o tempo de morte dos insetos infectados quando comparado com o tempo de morte induzida pela infecção do vírus selvagem, principalmente quando os vírus são administrados oralmente (Katsuma et al., 2006b; Detvisitsakun et al., 2007). Dessa forma, a ação dessa proteína está relacionada à velocidade de dispersão do vírus dentro do inseto (Detvisitsakun et al., 2007). Means e Passarelli (2010) mostraram que a presença do gene *vfgf* induz a degradação e a remodelagem da lâmina basal de célula da traqueia ligada ao intestino médio da larva infectada, com a participação de metaloproteases e caspases efetoras, enzimas presentes na LB para uma eficiente infecção sistêmica.

Os hemócitos e os traqueídeos são altamente susceptíveis à infecção pelos baculovírus, o que é importante para a patogenicidade desses vírus, pois são locais de amplificação viral (Engelhard et al., 1994). Além disso, o sistema circulatório dos insetos é do tipo aberto, por isso a hemolinfa circula livremente dentro do corpo em contato direto com os outros órgãos internos, o que facilita a dispersão dos vírus (Granados; Lawler, 1981; Washburn et al., 1995; Barrett et al., 1998). O sistema respiratório, por sua vez, leva oxigênio para todos os tecidos e também constitui uma via de dispersão da infecção viral (Engelhard et al., 1994; Soares; Ribeiro, 2005). A hemolinfa é responsável pela distribuição de nutrientes para o corpo do inseto e possui diferentes tipos celulares envolvidos na defesa do organismo contra patógenos. Essas células são responsáveis pela fagocitose, coagulação, encapsulamento e formação de nódulos em volta de patógenos ou corpos estranhos (Silveira et al., 2003, 2004).

Apesar de a maioria dos baculovírus possuir uma gama de hospedeiros restrita, alguns deles podem infectar mais de uma espécie de inseto. O *A. californica multiple nucleopolyhedrovirus* (AcMNPV), por exemplo, é capaz de infectar 32 espécies de lepidópteros, entretanto a susceptibilidade desses insetos à infecção viral é diferente e depende de diversos fatores, como estágio de desenvolvimento, resposta imune do hospedeiro e tipo de alimentação (Engelhard; Volkman, 1995; Hoover et al., 2000; Zhang et al., 2002). Insetos totalmente permissíveis à infecção por baculovírus são incapazes de evitar o estabelecimento da infecção quando em contato com uma determinada dose mínima de vírus. Já insetos semipermissíveis possuem mecanismos de defesa mais eficientes para evitar o estabelecimento da infecção e, normalmente, é necessária uma quantidade de vírus muito alta para que o processo ocorra.

Apesar de o baculovírus AcMNPV ser capaz de infectar dezenas de espécies de lepidópteros, a replicação desse vírus nos diferentes tecidos dos insetos pode ser bem diferente. Para iniciar uma infecção em larvas de *S. frugiperda* (penúltimo estágio de desenvolvimento), é necessária uma dose aproximadamente mil vezes maior do que para larvas de *T. ni* no último estágio de desenvolvimento (Clark; Clem, 2002). Além disso, *S. frugiperda* leva mais que o dobro do tempo para morrer. Uma das causas dessa resistência pode estar na suscetibilidade dos hemócitos, pois apenas 5% deles são infectados após 24 horas de contato com o vírus, enquanto nos hemócitos de *T. ni* esse percentual é de 57% (Clark; Clem, 2002). Algo semelhante ocorre com a infecção de AcMNPV em larvas permissivas de *Heliothis virescens* (F.) e semipermissivas de *Helicoverpa zea* (Boddie) (Trudeau et al., 2001). Nesse caso, o mecanismo de resistência das larvas de *H. zea* também está relacionado com a baixa replicação viral nos hemócitos e a formação de focos de infecção nas traqueias encapsuladas e melanizadas (Trudeau et al., 2001).

Genes auxiliares da replicação e dispersão viral

As células possuem diferentes mecanismos de restrição à infecção e à replicação viral. Para que um determinado vírus consiga se replicar eficientemente em uma célula hospedeira, ele precisa superar esses mecanismos de defesa celular. Os *core genes*, conservados em todos os baculovírus (ver seção Diversidade e Evolução da Família *Baculoviridae*), desempenham papéis importantes no ciclo de infecção. Entretanto, existem outros genes que estão presentes em apenas alguns baculovírus e têm sido classificados como genes auxiliares. A aquisição ou perda de genes ao longo da evolução dos baculovírus é evidente a partir da análise dos genomas conhecidos, e a inserção desses genes no genoma viral está, muitas vezes, associada a uma eficiente infecção e/ou replicação viral (Miele et al., 2011; Ferrelli et al., 2012), como será mencionado nos exemplos que se seguem.

Genes inibidores de apoptose (*p35* e *iap*) – Os baculovírus possuem genes que codificam proteínas antiapoptóticas. A apoptose (morte celular programada) é um mecanismo de morte celular conservado em organismos invertebrados e vertebrados, sendo crucial para o desenvolvimento embrionário, com a eliminação de células desnecessárias e também de células infectadas por vírus ou defeituosas (Kam; Ferch, 2000; Clem, 2015). Os genes *p35* e *iap* (inibidor de apoptose) exercem papel importante em interações vírus-hospedeiro, pois inibem a apoptose em células hospedeiras (Clem et al., 1991; Castro; Ribeiro, 2001; Clem, 2007). De acordo com a homologia de suas sequências, as proteínas antiapoptóticas do tipo IAP são classificadas em seis grupos (IAP1-IAP6) e nem todas possuem atividade antiapoptótica (Mehrabadi et al., 2015; Fu et al., 2017). A deleção de genes antiapoptóticos do genoma viral resulta na diminuição da infectividade viral *in vitro* e *in vivo*, o que confirma o seu papel no estabelecimento de uma infecção produtiva (Clem et al., 1991; Silveira et al., 2007).

Gene inativador do hormônio ecdisona: ecdisteroide udp-glicosiltransferase (*egt*) – A maioria dos baculovírus possui um gene que codifica uma enzima capaz de inativar o hormônio ecdisona do inseto. Esse hormônio é responsável pelo controle da mudança de estágio larval e da metamorfose dos insetos (O'Reilly, 1995). A enzima viral ecdisteroide UDP-glicosiltransferase (EGT) catalisa a transferência de um monossacarídeo (UDP-glicose ou UDP-galactose) para o hormônio ecdisona, inativando-o (O'Reilly; Miller, 1989). Essa inativação durante a infecção faz com que as larvas não progridam para a próxima muda e continuem se alimentando, o que resulta em grande replicação viral. Foi demonstrado por diferentes pesquisadores que a inativação desse gene resulta em aumento na velocidade de morte dos insetos infectados (O'Reilly; Miller, 1991; Pinedo et al., 2003).

Genes quitinase (*chiA*) e catepsina (*v-cath*) – Uma das características da infecção do baculovírus AcMNPV em insetos suscetíveis é a degradação do corpo do inseto logo após sua morte. Essa degradação ou liquefação é resultado da expressão das enzimas virais catepsina (V-CATH) e quitinase (CHIA) nos estágios finais da infecção (Hawtin et al., 1997). A degradação da cutícula dos insetos infectados no final da infecção é considerada uma vantagem evolutiva, pois aumentaria a dispersão dos vírus no meio ambiente (Daimon et al., 2006). Entretanto, nem todos os baculovírus possuem, em seu genoma, os genes para essas enzimas, como, por exemplo, o baculovírus AgMNPV (Slack et al., 1995). Larvas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner infectadas pelo AgMNPV não sofrem liquefação logo após a morte, e a inserção dos genes *v-cath* e *chiA* de outro baculovírus filogeneticamente próximo ao AgMNPV (*Choristoneura fumiferana* DEF multiple nucleopolyhedrovirus, CfDEFNPV) no genoma do AgMNPV resultou na liquefação do corpo do inseto no final da infecção, confirmando o papel dessas enzimas nesse processo (Lima et al., 2013).

Gene da tirosina fosfatase (*ptp*) – O gene *ptp* (Sheng et al., 1993) codifica uma enzima denominada proteína tirosina fosfatase (PTP). Kamita et al. (2005) mostraram que o gene *ptp* estava envolvido no aumento da atividade de locomoção da larva de *B. mori* quando infectada pelo baculovírus BmNPV. Insetos infectados por um baculovírus com uma deleção nesse gene apresentam locomoção reduzida durante a infecção viral. Os autores especulam que esse aumento na locomoção da larva infectada pode estar relacionado a uma maior dispersão do vírus no meio ambiente, pois o inseto moribundo se movimentaria mais no final da infecção e espalharia vírus em uma área maior. Por sua vez, Katsuma (2015) construiu BmNPV recombinantes que expressavam PTP inativa e demonstrou que a atividade enzimática não era a responsável pelo aumento da atividade de locomoção da larva infectada, mas sim a presença da proteína na partícula viral (BV). Outro gene de baculovírus envolvido na mudança de comportamento do hospedeiro é o gene *egt* descrito anteriormente. Hoover et al. (2011) mostraram que o baculovírus *Lymantria dispar* nucleopolyhedrovirus (LdMNPV) era capaz de induzir uma mudança de comportamento da larva infectada semelhante ao descrito para o gene *ptp*, em que as larvas infectadas procuravam lugares mais altos antes da morte. Quando utilizavam baculovírus recombinantes que continham o gene *egt* deletado, esse comportamento não acontecia. Dessa forma, concluíram que esse gene também possui um papel na dispersão do vírus na natureza.

Genes relacionados ao metabolismo de nucleotídeos (*dut*, *rnr* e/ou *tmk* e homólogos) – Alguns baculovírus possuem genes homólogos aos genes *dUTP* difosfatase (*dut*), ribonucleotideo-difosfato redutase (*rnr*) e/ou timidina monofosfato quinase (*tmk*). Entretanto, entre esses genes, apenas o gene híbrido *dut/tmk* presente nos baculovírus – *Perigonia lusca* single nucleopolyhedrovirus (PeluSNPV) e *Erinnyis ello* granulovirus (ErelGV) – foi alvo de análise funcional (Ardisson-Araújo, 2016).

A enzima dUTPase é responsável pela remoção de dUTP eventualmente incorporado na molécula de DNA durante a replicação pela DNA polimerase. As enzimas RNR e TMK participam, respectivamente, da síntese de dCTP (*desoxicitidina trifosfato*) e dTTP (*desoxitimidina trifosfato*), que são precursores de nucleotídeos (blocos que constituem a molécula de DNA). A introdução desses genes no genoma do AcMNPV foi capaz de acelerar a expressão de genes virais, a replicação do DNA viral e a produção de progênie viral, além de resultar em maior produção de poliedros. A presença desses genes no genoma de alguns baculovírus pode estar relacionada a uma maior proteção do genoma viral contra mutações deletérias (Ardisson-Araújo, 2016).

USO DOS BACULOVÍRUS E SUA IMPORTÂNCIA

O Brasil é um país essencialmente tropical, com dimensões continentais e várias fronteiras agrícolas. As altas temperaturas médias no País favorecem o aparecimento de insetos-pragas nas diversas culturas. Somando-se a isso, nas principais regiões produtoras, chega-se a cultivar até três ciclos anuais de algumas culturas, com sobreposição de plantios ao longo do ano, o que resulta em grande oferta sem interrupção de alimento para os insetos herbívoros. Como as grandes áreas de fronteiras agrícolas plantam essencialmente soja (*Glycine max*), algodão (*Gossypium hirsutum*), milho (*Zea mays*) e feijão (*Phaseolus vulgaris*), as lagartas desfolhadoras migram facilmente entre as culturas, como é o caso da lagarta-falsa-medideira-da-soja (*Chrysodeixis* sp.), que também é uma praga desfolhadora de algodão. A lagarta-do-cartucho (*S. frugiperda*) é praga do milho, mas pode atacar soja, algodão e feijão. De igual modo, a *H. armigera* ataca milho, soja e algodão. O controle dessas pragas agrícolas é feito essencialmente com o uso indiscriminado de inseticidas químicos, o que tem gerado poluição ambiental em todo o planeta, além de causar intoxicação de aplicadores, rios, nascentes e do produto final a ser vendido no mercado, tanto in natura como processado.

Entre os vários agentes de controle biológico, os vírus, principalmente os do grupo dos baculovírus, constituem uma alternativa viável para o controle de pragas de importância agrícola e uma ferramenta fundamental dentro do contexto do MIP.

Como mencionado anteriormente, o interesse pelo uso dos baculovírus como agentes de controle biológico iniciou-se no ano de 1527, quando os baculovírus foram encontrados em estudos da *jaundice disease* do bicho-da-seda *B. mori* (Benz, 1986). Mas os estudos da natureza dessa doença só foram estabelecidos em 1947, deixando claro que esses vírus estavam espalhados pela natureza, e sua ocorrência era entre pragas de importância econômica.

Os baculovírus são mais comuns nos insetos da ordem Lepidoptera e podem ser usados na agricultura em diversas estratégias, conforme explicado em detalhes no Capítulo 1. A primeira estratégia é o controle biológico clássico, no qual há introdução e colonização do patógeno. A introdução de um baculovírus é feita em uma região onde ele não ocorre naturalmente, com o objetivo de estabelecer esse patógeno no ambiente do hospedeiro (praga-alvo) e promover seu controle. Outra estratégia é a introdução inoculativa, em que o patógeno é aplicado, de modo que se multiplique e se dissemine eficientemente no ambiente, controlando o inseto hospedeiro por mais de uma geração e, se necessário, pode ser reaplicado no mesmo ambiente. Há ainda a estratégia do aumento do inóculo do vírus por intervenção do ser humano, por meio de práticas culturais que possam beneficiar o aumento do baculovírus em populações do inseto hospedeiro. Nesse caso, faz-se uma manipulação do ambiente onde há a ocorrência natural de um vírus. A estratégia inundativa, na qual o vírus é aplicado na forma de um inseticida microbiano, é muito utilizada. Nesse caso, o vírus é formulado e aplicado várias vezes, se necessário, da mesma maneira que um inseticida químico, para que se possa manter a praga hospedeira abaixo de níveis de dano econômico para a cultura atacada. Esta última é a estratégia mais utilizada para o controle de pragas em campo por meio de baculovírus, que, nesse caso, pode ser produzido em biofábricas e disponibilizado no mercado.

Segurança do uso de produtos biológicos à base de baculovírus

Estudos extensivos têm sido publicados, os quais confirmam a biossegurança do uso e da aplicação de produtos à base de baculovírus na agricultura (Summers; Kawanishi, 1978; Organisation for Economic Co-Operation and Development, 2002; Lapointe et al., 2012). Em 1980, Burges e colaboradores desenvolveram um trabalho sobre a segurança dos baculovírus, no qual afirmaram que os NPVs são inofensivos ou são incapazes de replicar em microrganismos, em culturas de células de invertebrados que não sejam insetos e em cultura de células de vertebrados, plantas e invertebrados não artrópodes. No final dos anos 1960, um isolado de NPV para o controle da *H. zea* foi submetido a uma série de testes tão rigorosos quanto para os inseticidas químicos recomendados pela OMS (Organização Mundial de Saúde) e pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos. Testes foram realizados em primatas e no próprio Homem para efeitos carcinogênicos e teratogênicos. Foram testes extremamente rigorosos para se ter certeza da não infecção de animais vertebrados e humanos com vírus de insetos. Entre os organismos testados, foram incluídos pardais, ratos e outros organismos não alvo (insetos predadores, etc.). Nenhum efeito adverso foi detectado nos organismos testados.

Produção

O processo de desenvolvimento de bioinseticidas envolve muitas pesquisas anteriores à produção, que se inicia com os estudos de identificação e caracterização do agente causador da doença, seguidos, por exemplo, de testes de avaliações e análises de parâmetros, como concentração letal 50 (CL_{50} – concentração necessária para matar 50% da população de insetos), tempo letal 50 (TL_{50} – tempo necessário para matar 50% da população de insetos), produção de poliedros por lagarta, lagarta equivalente (LE/ha – quantidade de lagartas necessárias para se pulverizar 1 ha) e peso equivalente (quantidade de lagartas necessárias para pulverizar 1 ha, em peso). Os resultados desses parâmetros vão servir de orientação para as diversas etapas da produção.

A produção de biopesticidas à base de baculovírus envolve várias etapas, desde a criação do inseto hospedeiro até a formulação final do produto. A primeira etapa é a coleta e o armazenamento das lagartas infectadas com o baculovírus. Quando produzido em larga escala, a liquefação do tegumento da lagarta imediatamente após a sua morte pode ser o principal fator limitante dessa etapa. As larvas mortas se liquefazem, em razão do rompimento do tegumento, e isso faz com que todo o líquido interno se extravase, dificultando a coleta e armazenamento do material.

No caso da produção de bioinseticida para controle da lagarta-do-cartucho-do-milho (*S. frugiperda*), essa limitação foi superada com a descoberta de um isolado viral (*S. frugiperda* MNPV-6NR) que não causa liquefação do tegumento do inseto logo após a sua morte (Macedo et al., 2012). Essa característica é muito importante por reduzir a mão de obra e o custo de produção durante o processo de coleta do material infectado, não havendo necessidade de congelamento imediato das lagartas coletadas.

Nesse ponto do sistema de produção, as lagartas mortas podem ir para as etapas de processamento e formulação ou podem ser congeladas para posterior uso. Esse procedimento depende da disponibilidade de tempo, do pessoal de apoio e do fluxo de produção da biofábrica. As lagartas mortas infectadas com baculovírus permanecem viáveis por mais de um ano quando congeladas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Principais programas de controle biológico de pragas com baculovírus no Brasil

Há vários programas de controle biológico no Brasil e no mundo, nos quais o baculovírus é comercializado como bioinseticida para uso no controle de diversas pragas agrícolas e florestais (Moscardi, 1999; Sosa-Gómez et al., 2008; Hasse et al., 2015).

Porém, é reconhecido também que o sucesso do controle de pragas desses programas, no que diz respeito a reduzir o número de aplicações de inseticidas químicos e minimizar o impacto ambiental, depende da associação de diferentes táticas e procedimentos de ambos os controles químico e biológico aplicados em sistemas de MIP (Moscardi et al., 2011). Essa tecnologia promove o controle racional de pragas e busca manter o equilíbrio dos ecossistemas, garantindo mais qualidade e produtividade no campo.

Lagarta-da-soja – *Anticarsia gemmatalis nucleopolyhedrovirus* (AgMNPV)

Esse foi o maior programa de controle biológico usando vírus entomopatogênicos no Brasil (Moscardi, 1999, 2007; Moscardi et al., 2011). A lagarta-da-soja (*A. gemmatalis*) é uma das principais pragas da cultura da soja no Brasil e ocorre da Argentina até o sudeste dos Estados Unidos. A aplicação do AgMNPV, produzido pela empresa Coodetec com o apoio de pesquisadores da Embrapa, chegou a quase 2 milhões de hectares de soja no País (Moscardi, 1989, 1999; Moscardi et al., 2011). No entanto, em razão das mudanças nas práticas dos produtores de soja, houve um declínio no uso do AgMNPV o que reduziu drasticamente a produção desse bioinseticida para uma área de aproximadamente 300 mil hectares por ano (Moscardi, 2007). Ainda assim, no que se refere ao uso de vírus de insetos no controle biológico, o AgMNPV é considerado o exemplo de sucesso dos baculovírus pela sua importância tanto na pesquisa básica como aplicada. Extensivos estudos têm sido realizados quanto à identificação morfológica, caracterização genética e molecular, patologia e atividade biológica de diferentes isolados desse vírus. O genoma completo do clone purificado AgMNPV-2D foi publicado em 2006 (Oliveira et al., 2006).

Lagarta-do-cartucho-do-milho – *Spodoptera frugiperda nucleopolyhedrovirus* (SfMNPV)

A pesquisa sobre o uso do baculovírus SfMNPV para o controle da lagarta-do-cartucho teve início em 1984 na Embrapa, quando, durante um levantamento (1984-1989) de inimigos naturais de *S. frugiperda*, foram encontradas várias lagartas mortas por vírus (Valicente, 1989). Esses vírus foram purificados e depositados em uma coleção de SfMNPV que atualmente conta com 22 isolados amostrados em diversas regiões do Brasil. Esses isolados foram estudados, caracterizados, e sua eficiência foi avaliada em relação à lagarta-do-cartucho (Barreto et al., 2005). Entre os isolados mais estudados e eficientes no controle dessa praga, o SfMNPV-19 foi selecionado e seu genoma totalmente sequenciado (Wolff et al., 2008).

No processo de produção de baculovírus para aplicação nas lavouras, o objetivo é que as lagartas inoculadas em laboratório produzam mais poliedros por lagarta e, conseqüentemente, haja a redução do número de lagartas equivalentes (LE), isto é, o número de lagartas necessárias para pulverizar 1 ha. Para o SfMNPV, Valicente et al. (2013) relatam que entre 12 e 14 lagartas produzem o suficiente para a aplicação em 1 ha de milho. A primeira empresa brasileira a registrar o *Baculovirus spodoptera* foi a Vitae Rural, e o nome comercial do produto é Cartuchovit. Em seguida, a Simbiose, também uma empresa brasileira, registrou produto denominado Vircontrol. Espera-se que o produto seja mantido no mercado, pois, além dessas, três grandes empresas firmaram acordo de parcerias também para a produção desse vírus.

Lagarta-mandarová-da-mandioca – *Erinnyis ello granulovirus* (ErelGV)

O programa do controle do mandarová-da-mandioca com *E. ello granulovirus* (ErelGV) foi implantado pela primeira vez no Brasil em propriedades agrícolas, pela Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri), na região de Itajaí, SC, com um vírus de granulose (um betabaculovirus), isolado na década de 1980 no estado de Santa Catarina (Schmitt, 1985). Há relatos de emprego do vírus na forma de extrato de lagartas infectadas em cultivos de mandioca em Santa Catarina, Paraná e no Nordeste do Brasil. A produção do vírus era realizada em laboratório, com a coleta de lagartas mortas infectadas pelo vírus; e, posteriormente, era feita a distribuição aos agricultores. Por alguns anos, esse vírus passou a ser produzido também pelo Instituto Agrônômico do Paraná (Iapar), porém não se têm relatos da expansão desse projeto-piloto. Um isolado viral de *E. ello* (L.) *ello*, proveniente de larvas infectadas naturalmente no campo, coletadas, em 1986, em plantações de mandioca no Sul do Brasil, foi caracterizado e seu genoma sequenciado (Ardisson-Araújo et al., 2014).

Lagarta-do-álamo – *Condylorrhiza vestigialis nucleopolyhedrovirus* (CoveNPV)

Outro programa importante e com grande potencial de controle da lagarta-do-álamo [*Condylorrhiza vestigialis* (Guenée)] é o do baculovírus CoveNPV. Esse vírus foi isolado de larvas *C. vestigialis* infectadas naturalmente, identificado, classificado e caracterizado; e seu genoma completo foi sequenciado (Castro et al., 2003, 2009, 2011, 2017). O bioinseticida, registrado em 2013 sob o nome comercial de Baculovirus Álamo (formulação em pó molhável), está sendo usado para combate à praga *C. vestigialis*, em plantações de álamo (*Populus*) no Sul do Brasil. O álamo é plantado em regiões de várzea (cerca de 5,5 mil hectares) nos estados do Paraná e de Santa Catarina. A madeira é usada na indústria de palitos de fósforos, porém a

lagarta-do-álamo causa uma grande desfolha dessas árvores. Na fase inicial desse programa, em 2002, foi possível tratar cerca de 1,0 ha/dia com baculovírus.

Lagarta-falsa-medideira – *Chrysodeixis includens nucleopolyhedrovirus* (ChinNPV)

Mais de 40 isolados de baculovírus para *Chrysodeixis* sp., cuja lagarta é praga de milho, foram testados em laboratórios da Embrapa e há projetos com empresas parceiras para o desenvolvimento de produtos comerciais. Estudos complementares de caracterização biológica e molecular, além de avaliação de patogenicidade de 14 isolados de *Pseudoplusia includens* NPV, espécie reclassificada no gênero *Chrysodeixis*, já foram realizados (Alexandre et al., 2010; Craveiro et al., 2013, 2015, 2016; Costa et al., 2017), e outros estão em desenvolvimento (Costa et al., 2017), visando dar suporte ao uso de baculovírus mais eficazes em sistemas de manejo integrado da praga *C. includens*. A empresa AgBiTech Brasil teve o registro concedido recentemente pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) para produzir um inseticida biológico para o controle das lagartas *C. includens* e *H. armigera*.

Lagarta-do-algodão – *Helicoverpa armigera nucleopolyhedrovirus* (HearNPV)

Recentemente identificada no Brasil, a lagarta *H. armigera* foi considerada, até 2013, uma praga quarentenária (Tay et al., 2013). Lagartas foram coletadas em algumas regiões do Brasil assim que o surto dessa praga ocorreu (2012–2013) e foram trazidas para o laboratório. Vários isolados foram descobertos e testados em lagartas sadias, e o mesmo sintoma inicial foi obtido. Para o desenvolvimento de um bioinseticida, foram selecionados isolados de maior virulência e patogenicidade em seus insetos-hospedeiro. Alguns bioinseticidas produzidos a partir do ingrediente ativo à base de baculovírus (VPN-HzSNPV) foram autorizados pelo Mapa e estão sendo testados e usados no controle da praga *H. armigera*.

DESAFIOS E PERSPECTIVAS

A grande vantagem dos baculovírus, que são agentes de controle natural, é que não causam danos à saúde dos aplicadores, não matam inimigos naturais dos insetos-praga, não desestabilizam o meio ambiente e não poluem florestas, rios e nascentes. Esses fatores, aliados à especificidade e à facilidade de manuseio dos baculovírus em relação ao inseto-alvo, fazem desses patógenos um atraente agente de controle biológico. A especificidade dos baculovírus é uma grande vantagem, porém

pode ser considerada uma desvantagem quando se tem um vírus infectando apenas uma espécie de inseto de cada vez.

Outra grande vantagem dos produtos biológicos à base de baculovírus é que eles podem ser aplicados com os mesmos equipamentos usados para aplicação de produtos químicos, porém deve-se respeitar o volume de calda. Esse é um fator que contribui para um baixo custo de aplicação dos baculovírus, uma vez que não necessita de equipamentos especiais. A maioria dos produtos químicos possui compatibilidade com os baculovírus. Dessa forma, o uso dos mesmos equipamentos não é um fator limitante, o que facilita o manejo dentro das propriedades rurais.

Uma das desvantagens do uso do baculovírus é sua ação mais lenta que a dos inseticidas químicos, demorando mais tempo para matar o inseto-alvo. Apesar de uma lagarta contaminada com baculovírus poder reduzir sua alimentação, esse inseto pode levar em torno de 4 dias após a aplicação do bioinseticida para perder sua capacidade de se alimentar. Esse fator pode fazer com que alguns agricultores não vejam o efeito imediato do controle das lagartas pelo baculovírus, por isso, por vezes, demoram a incorporar esse agente de controle dentro do sistema de manejo integrado. De um modo geral, os baculovírus infectam insetos hospedeiros e causam sua morte quando eles se encontram nos estágios iniciais de sua fase larval (até o terceiro/quarto instar). Assim, o estágio de desenvolvimento mais avançado do inseto pode ser um fator limitante no controle da praga. Esse fator se torna mais acentuado, quando se trata de larvas que se alojam em regiões da planta de difícil alcance para a aplicação do inseticida biológico ou mesmo químico, como no caso da lagarta-do-cartucho-do-milho, em que as larvas crescem e se alojam nos cartuchos das plantas.

Vale ressaltar que todo processo de produção de um biopesticida à base de baculovírus é feito em laboratório e que são usadas lagartas sadias provenientes de criação artificial. Nem sempre é fácil completar o ciclo da lagarta em laboratório, quando há fatores limitantes como dieta artificial e temperatura de incubação do inseto após a infecção com baculovírus. Essas dificuldades, aliadas à falta de formulações adequadas, têm tornado os bioinseticidas produzidos relativamente mais caros.

As restrições e as oportunidades de uso de baculovírus na proteção de culturas de importância econômica em sistemas agrícolas e florestais fortalecem o crescente interesse direcionado ao desenvolvimento de pesquisas, desde a taxonomia e a morfologia, passando pela patologia, ecologia e evolução dos baculovírus, até as mais atuais pesquisas genômicas com uso de novas ferramentas e técnicas da bioinformática. Esses avanços têm proporcionado grande aplicabilidade dos baculovírus nas áreas da biotecnologia agrícola, médica, farmacêutica e industrial. As barreiras existentes para o uso mais amplo de baculovírus diante das diversas limitações para

a produção de bioinseticidas mais eficazes são desafios a serem enfrentados e que devem ser tratados como prioridades de pesquisa, uma vez que o panorama atual no Brasil e no mundo é altamente favorável ao controle biológico.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, M. J.; LEFKOWITZ, E. J.; KING, A. M.; HARRACH, B.; HARRISON, R. L.; KNOWLES, N. J.; KROPINSKI, A. M.; KRUPOVIC, M.; KUHN, J. H.; MUSHEGIAN, A. R. 50 years of the International Committee on Taxonomy of Viruses: progress and prospects. **Archives of Virology**, v. 162, p. 1441-1446, 2017.
- AFONSO, C.; TULMAN, E.; LU, Z.; BALINSKY, C.; MOSER, B.; BECNEL, J.; ROCK, D.; KUTISH, G. Genome sequence of a baculovirus pathogenic for *Culex nigripalpus*. **Journal of Virology**, v. 75, p. 11157-11165, 2001. DOI: 10.1128/JVI.75.22.11157-11165.2001.
- ALEXANDRE, T. M.; RIBEIRO, Z. M. A.; CRAVEIRO, S. R.; CUNHA, F.; FONSECA, I. C.; MOSCARDI, F.; CASTRO, M. E. B. Evaluation of seven viral isolates as potential biocontrol agents against *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) caterpillars. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 105, n. 1, p. 98-104, Sept. 2010. DOI: 10.1016/j.jip.2010.05.015.
- ARAGÃO-SILVA, C. W.; ANDRADE, M. S.; ARDISSON-ARAÚJO, D. M. P.; FERNANDES, J. E. A.; MORGADO, F. S.; BÃO, S. N.; MORAES, R. H. P.; WOLFF, J. L. C.; MELO, F. L.; RIBEIRO, B. M. The complete genome of a baculovirus isolated from an insect of medical interest: *Lonomia obliqua* (Lepidoptera: Saturniidae). **Scientific Reports**, v. 6, art. number 23127, 2016.
- ARDISSON-ARAÚJO, D. M. P.; LIMA, R. N.; MELO, F. L.; CLEM, R. J.; HUANG, N.; BÃO, S. N.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; RIBEIRO, B. M. Genome sequence of *Perigonia lusca single nucleopolyhedrovirus*: insights into the evolution of a nucleotide metabolism enzyme in the family *Baculoviridae*. **Scientific Reports**, v. 6, art. number 24612, June 2016.
- ARDISSON-ARAÚJO, D. M. P.; MELO, F. L.; ANDRADE, M. S.; SIHLER, W.; BÃO, S. N.; RIBEIRO, B. M.; SOUZA, M. L. Genome sequence of *Erinnyis ello granulovirus* (ErelGV), a natural cassava hornworm pesticide and the first sequenced sphingid-infecting betabaculovirus. **BMC Genomics**, v. 15, art. number 856, 2014.
- AYRES, M. D.; HOWARD, S. C.; KUZIO, J.; LOPEZ-FERBER, M.; POSSEE, R. D. The complete DNA sequence of *Autographa californica nuclear polyhedrosis virus*. **Virology**, v. 202, n. 2, p. 586-605, 1994. DOI: 10.1006/viro.1994.1380.
- BARRETO, M. R.; GUIMARAES, C. T.; TEIXEIRA, F. F.; PAIVA, E.; VALICENTE, F. H. Effect of *Baculovirus spodoptera* isolates in *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae and their characterization by RAPD. **Neotropical Entomology**, n. 34, n. 1, p. 67-75, Jan./Feb. 2005. DOI: 10.1590/S1519-566X2005000100010.
- BARRETT, J. W.; BROWNRIGHT, A. J.; PRIMAVERA, M. J.; PALLI, S. R. Studies of the nucleopolyhedrovirus infection process in insects by using the green fluorescence protein as a reporter. **Journal of Virology**, v. 72, n. 4, p. 3377-3382, Apr. 1998.
- BECNEL, J. J.; WHITE, S. E.; MOSER, B. A.; FUKUDA, T.; ROTSTEIN, M. J.; UNDEEN, A. H.; COCKBURN, A. Epizootiology and transmission of a newly discovered baculovirus from the mosquitoes *Culex nigripalpus* and *C. quinquefasciatus*. **Journal of General Virology**, v. 82, p. 275-282, 2001. DOI: 10.1099/0022-1317-82-2-275.

BENZ, G.A. Introduction: historical perspectives. In: GRANADOS, R.R.; FEDERICI, B.A. (Ed.). **The biology of baculoviruses**, p.1-35. Boca Raton: CRC, 1986. p. 35.

BIDESI, D. K.; RENAULT, S.; STASIAK, K.; FEDERICI, B. A.; BIGOT, Y. Phylogenetic analysis and possible function of bro-like genes, a multigene family widespread among large double-stranded DNA viruses of invertebrates and bacteria. **Journal of General Virology**, p. v. 84, p. 2531-2544, 2003. DOI: 10.1099/vir.0.19256-0.

BOOGAARD, B.; OERS, M. M. van; LENT, J. W. M. van. An advanced view on baculovirus *per Os* infectivity factors. **Insects**, v. 9, n. 3, p. 1-16, July 2018. DOI: 10.3390/insects9030084.

BRANDT, C. R.; ADANG, M. J.; SPENCE, K. D. S. The peritrophic membrane: Ultrastructural analysis and function as a mechanical barrier to microbial infection in *Orgyia pseudotsugata*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 32, n. 1, p. 12-24, July 1978. DOI: 10.1016/0022-2011(78)90169-6.

BURGES, H. D.; CROIZIER, G.; HUBER, J. A review of safety tests on baculoviruses. **Entomophaga**, v. 25, n. 4, p. 329-340, 1980a.

BURGES, H. D.; HUBER, J.; CROIZIER, G. Guidelines for safety tests on insect viruses. **Entomophaga**, v. 25, n. 4, p. 341-348, 1980b. DOI: 10.1007/BF02374694.

CASTRO M. E. B.; RIBEIRO Z. M. A.; SANTOS A. C. B.; SOUZA, M. L.; MACHADO, E. B.; SOUSA, N. J.; MOSCARDI, F. Identification of a new nucleopolyhedrovirus from naturally-infected *Condylorrhiza vestigialis* (Guenée) (Lepidoptera: Crambidae) larvae on poplar plantations in South Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 102, n. 2, p. 149-154, 2009. DOI: 10.1016/j.jip.2009.07.011.

CASTRO, M. E. B.; PAULA, D. P.; ALMEIDA, G. F.; RIBEIRO, Z. M. A.; SOUZA, M. L.; INGLIS, P. W.; RIBEIRO, B. M. Identification and sequence analysis of the *Condylorrhiza vestigialis* MNPV p74 gene. **Virus Genes**, v. 43, n. 3, p. 471-475, 2011.

CASTRO, M. E. B.; RIBEIRO, B. M. Production of viral progeny in insect cells undergoing apoptosis induced by a mutant *Anticarsia gemmatalis* nucleopolyhedrovirus. **Microbiological Research**, v. 156, n. 4, p. 369-376, 2001. DOI: 10.1078/0944-5013-00122.

CASTRO, M. E. B.; TAGLIARI, M.; MELO, F. L.; INGLIS, P. W.; CRAVEIRO, S. R.; RIBEIRO, Z. M. A.; RIBEIRO, B. M.; BÃO S. N. The genome sequence of *Condylorrhiza vestigialis* NPV, a novel baculovirus for the control of the alamo moth on *Populus* spp. in Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 148, p. 152-161, Sept. 2017. DOI: 10.1016/j.jip.2017.06.013.

CLARK, T. E.; CLEM, R. J. Lack of involvement of haemocytes in the establishment and spread of infection in *Spodoptera frugiperda* larvae infected with the baculovirus *Autographa californica* M nucleopolyhedrovirus by intrahaemocoelic injection. **Journal of General Virology**, v. 83, p. 1565-1572, July 2002. DOI: 10.1099/0022-1317-83-7-1565.

CLEM, R. J. Baculoviruses and apoptosis: a diversity of genes and responses. **Current Drug Targets**, v. 8, n. 10, p. 1069-1074, 2007.

CLEM, R. J.; FECHHEIMER, M.; MILLER, L. K. Prevention of apoptosis by a baculovirus gene during infection of insect cells. **Science**, v. 254, n. 5036, p. 1388-1390, 1991. DOI: 10.1126/science.1962198.

CLEM, R. J.; PASSARELLI, A. L. Baculoviruses: sophisticated pathogens of insects. **PLoS pathogens**, v. 9, n. 11e1003729, Nov. 2013. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003729.

CLEM, R. J. Viral IAPs, then and now. **Seminars in Cell and Developmental Biology**, v. 39, p. 72-79, Mar. 2015. DOI: 10.1016/j.semcd.2015.01.011.

CORDEIRO, B. A.; TIBURCIO, V. H. S.; HALLWASS, M.; PAES, H. C.; RIBEIRO, B. M.; BÃO, S. N. Structural and ultrastructural alterations of Malpighian tubules of *Anticarsia gemmatalis* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae infected with different *Anticarsia gemmatalis* multiple nucleopolyhedrovirus

(AgMNPV) recombinant viruses. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 98, n. 1, p. 7-19, May 2008. DOI: 0.1016/j.jip.2008.01.001.

CORY, J. S.; GREEN, B. M.; PAUL, R. K.; HUNTER-FUJITA, F. Genotypic and phenotypic diversity of a baculovirus population within an individual insect host. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 89, n. 2, p. 101-111, June 2005. DOI:10.1016/j.jip.2005.03.008.

COSTA, R. A.; SANTOS, L. A. V. M.; RIBEIRO, Z. M. A.; GOMES, A. C. M. M.; SOARES, C. M. S.; CASTRO, M. E. B. **Identificação morfológica e avaliação de infectividade de isolados virais patogênicos à lagarta *Chrysodeixis includens* e em cultivos de células de insetos**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2017. 27 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 328).

CRAVEIRO, S. R.; INGLIS, P. W.; TOGAWA, R. C.; GRYNBERG, P.; MELO, F. L.; RIBEIRO, Z. M.; RIBEIRO, B. M.; BAO, S. N.; CASTRO, M. E. B. The genome sequence of *Pseudoplusia includens* single nucleopolyhedrovirus and an analysis of *p26* gene evolution in the baculoviruses. **BMC Genomics**, v. 16, art. number, 127, 2015.

CRAVEIRO, S. R.; MELO, F. L.; RIBEIRO, Z. M.; RIBEIRO, B. M.; BAO, S. N.; INGLIS, P. W.; CASTRO, M. E. B. *Pseudoplusia includens* single nucleopolyhedrovirus: genetic diversity, phylogeny and hypervariability of the *pif-2* gene. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 114, n. 3, p. 258-267, Nov. 2013. DOI: 10.1016/j.jip.2013.08.005.

CRAVEIRO, S. R.; SANTOS, L. A. V. M.; TOGAWA, R. C.; INGLIS, P. W.; GRYNBERG, P.; RIBEIRO, Z. M. A.; RIBEIRO, B. M.; CASTRO, M. E. B. Complete genome sequences of six *Chrysodeixis includens* nucleopolyhedrovirus isolates from Brazil and Guatemala. **Genome Announcements**, v. 4, n. 6e011, p. 92-16, 2016. DOI: 10.1128/genomeA.01192-16.

DAIMON, T.; SUSUMU, K.; KANG, W.; SHIMADA, T. Comparative studies of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus chitinase and its host ortholog, BmChi-h. **Biochemical and Biophysical Research Communication**, v. 345, n. 2, p. 825-833, June 2006. DOI: 10.1016/j.bbrc.2006.04.112.

de JONG, J. G.; LAUZON, H. A.; DOMINY, C.; POLOUMIENKO, A.; CARSTENS, E. B.; ARIF, B. M.; KRELL, P. J. Analysis of the *Choristoneura fumiferana* nucleopolyhedrovirus genome. **Journal of General Virology**, v. 86, p. 929-943, Apr. 2005. DOI: 10.1099/vir.0.80490-0.

DETVISITSKUN, C.; BERRETTA, M. F.; LEHIY, C.; PASSARELLI, A. L. Stimulation of cell motility by a viral fibroblast growth factor homolog: proposal for a role in viral pathogenesis. **Virology**, v. 336, p. 308-317, 2005. DOI: 10.1016/j.virol.2005.03.013.

DETVISITSKUN, C.; CAIN, E. L.; PASSARELLI, A. L. The *Autographa californica* M nucleopolyhedrovirus fibroblast growth factor accelerates host mortality. **Virology**, v. 365, p. 70-78, Aug. 2007. DOI: 10.1016/j.virol.2007.03.027.

ENGELHARD, E. K.; KAM-MORGAN, L. N. W.; WASHBURN, J. O.; VOLKMAN, L. E. The insect tracheal system: a conduit for the systemic spread of *Autographa californica* M nuclear polyedrosis virus. **Microbiology**, v. 91, n. 8, p. 3224-3227, 1994. DOI: 10.1073/pnas.91.8.3224.

ENGELHARD, E. K.; VOLKMAN, L. E. Developmental resistance in fourth instar *Trichoplusia ni* orally inoculated with *Autographa californica* M nuclear polyhedrosis virus. **Virology**, v. 209, n. 1, p. 384-389, 1995. DOI: 10.1006/viro.1995.1270

FEDERICI, B. A. Baculovirus pathogenesis. In: MILLER, L. K. **The baculoviruses**. California: Springer, 1997. p. 33-59.

FERRELLI, M. L.; BERRETTA, M. F.; BELAICH, M. N.; GHIRINGHELLI, P. D.; SCIOCCO-CAP, A.; ROMANOWSKI, V. The baculoviral genome. In: GARCIA, M. L.; ROMANOWSKI, V. **Viral genomes: molecular structure, diversity, gene expression mechanisms and host-virus interactions**. **InTech**, p. 3-32, Feb. 2012. DOI: 10.5772/32209.

- FLEMING-DAVIES, A. E.; DUKIC, V.; ANDREASEN, V.; DWYER, R. G. Effects of host heterogeneity on pathogen diversity and evolution. **Ecology Letters**, v. 18, p. 1252-1261, Sept. 2015. DOI: 10.1111/ele.12506.
- FU, Y.; CAO, L.; WUB, S.; LIANGA, A. Function analysis and application of IAP1/2 of *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus. **RSC Advances**, v. 7, p. 22424, 2017. DOI: 10.1039/C7RA03711B.
- FUXA, J. R. Ecology of insect nucleopolyhedroviruses. **Agriculture Ecosystems and Environment**, v. 103, p. 27-43, June 2004. DOI: 10.1016/j.agee.2003.10.013.
- GARAVAGLIA, M. J.; MIELE, S. A. B.; ISERTE, J. A.; BELAICH, M. N.; GHIRINGHELLI, P. D. The *ac53*, *ac78*, *ac101*, and *ac103* genes are newly discovered core genes in the family *Baculoviridae*. **Journal of Virology**, v. 86, p. 12069-12079, Aug. 2012. DOI: 10.1128/JVI.01873-12.
- GRANADOS R. R.; LAWLER, K. A. In vivo pathway of *Autographa californica* baculovirus invasion and infection. **Virology**, v. 108, n. 2, p. 297-308, Jan. 1981. DOI: 10.1016/0042-6822(81)90438-4.
- GUARINO, L. A.; SUMMERS, M. D. Interspersed homologous DNA of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus enhances delayed-early gene expression. **Journal of Virology**, v. 60, n. 1, p. 215-223, Oct. 1986.
- HAASE, S.; SCIOCCO-CAP, A.; ROMANOWSKI, V. Baculovirus Insecticides in Latin America: historical overview, current status and future perspectives. **Viruses**, v. 7, n. 5, p. 2230-2267, Apr. 2015.
- HARRISON, R. L.; HERNIOU, E. A.; JEHLE, J. A.; THEILMANN, D. A.; BURAND, J. P.; BECNEL, J. J.; KRELL, P. J. M.; OERS, M. van; MOWERY, J. D.; BAUCHAN, G. R. ICTV virus taxonomy profile: *Baculoviridae*. **Journal of General Virology**, v. 99, p. 1185-1186, 2018. DOI: 10.1099/jgv.0.001107.
- HARRISON, R. L.; PUTTLER, B.; POPHAM, H. J. R. Genomic sequence analysis of a fast-killing isolate of *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus. **Journal of General Virology**, v. 89, p. 775-790, 2008. DOI: 10.1099/vir.0.83566-0.
- HARRISON, R. L.; ROWLEY, D. L.; FUNK C. J. The complete genome sequence of *Plodia interpunctella* granulovirus: evidence for horizontal gene transfer and discovery of an unusual inhibitor-of-apoptosis gene. **Plos One**, v. 11, n. 7e0160389, July 2016. DOI: 10.1371/journal.pone.0160389.
- HAWTIN, R. E.; ZARKOWSKA, T.; ARNOLD, K.; THOMAS, C. J.; GOODAY, G. W.; KING, L. A.; KUZIO, J. A.; POSSEE, R. D. Liquefaction of *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus-infected insects is dependent on the integrity of virus-encoded chitinase and cathepsin genes. **Virology**, v. 238, n. 2, p. 243-253, Nov. 1997. DOI: 10.1006/viro.1997.8816.
- HAYAKAWA, T.; ROHRMANN, G. F.; HASHIMOTO, Y. Patterns of genome organization and content in lepidopteran baculoviruses. **Virology**, v. 278, n. 5, p.1-12, Dec. 2000.
- HEFFERON, K. L.; OOMENS, A. G. P.; MONSMA, S. A.; FINNERTY, C. M.; BLISSARD, G. W. Host cell receptor binding by baculovirus GP64 and kinetics of virion entry. **Virology**, 258, p. 455-468, June 1999. DOI:10.1006/viro.1999.9758.
- HERNIOU, E. A.; ARIF, B. M.; BECNEL, J. J.; BLISSARD, G. W.; BONNING, B.; HARRISON, R.; JEHLE, J. A.; THEILMANN, D. A.; VLAK, J. M. *Baculoviridae*. In: KING, A. M. Q.; ADAMS, M. J.; CARSTENS, E. B.; LEFKOWITZ, E. J. **Virus taxonomy**: ninth report of the international committee on taxonomy of viruses. Oxford: Elsevier, 2012. p. 163-174.
- HERNIOU, E. A.; JEHLE, J. A. Baculovirus phylogeny and evolution. **Current Drug Targets**, v. 8, n. 10, p. 1043-1050, 2007. DOI: 10.2174/138945007782151306.
- HERNIOU, E. A.; OLSZEWSKI, J. A.; CORY, J. S.; O'REILLY, D. R. The genome sequence and evolution of baculoviruses. **Annual Review of Entomology**, v. 48, p. 211-234, 2003.

- HERNIOU, E. A.; OLSZEWSKI, J. A.; O'REILLY, D. R.; CORY, J. S. Ancient coevolution of baculoviruses and their insect hosts. **Journal of Virology**, v. 78, p. 3244-3251, 2004. DOI: 10.1128/JVI.78.7.3244-3251.2004.
- HILTON, S.; WINSTANLEY, D. Identification and functional analysis of the origins of DNA replication in the *Cydia pomonella* granulovirus genome. **Journal of General Virology**, v. 88, p. 1496-1504, May 2007. DOI:10.1099/vir.0.82760-0.
- HOOVER, K.; GROVE, M.; GARDNER, M.; HUGHES, D. P.; MCNEIL, J.; SLAVICEK, J. A gene for an extended phenotype. **Science**, v. 333, n. 6048, p. 1401, 2011. DOI: 10.1126/science.1209199.
- HOOVER, K.; WASHBURN, J. O.; VOLKMAN, L. E. Midgut-based resistance of *Heliothis virescens* to baculovirus infection mediated by phytochemicals in cotton. **Journal of Insect Physiology**, v. 46, n. 6, p. 999-1007, 2004. DOI: 10.1016/S0022-1910(99)00211-5.
- IJKEL, W. F.; WESTENBERG, M.; GOLDBACH, R. W.; BLISSARD, G. W.; VLAK, J. M.; ZUIDEMA, D. A novel baculovirus envelope fusion protein with a proprotein convertase cleavage site. **Virology**, n. 275, p. 30-41, May 2000. DOI: 10.1006/viro.2000.0483.
- IKEDA, M.; HAMAJIMA, R.; KOBAYASHI, M. Baculoviruses: diversity, evolution and manipulation of insects. **Entomological Science**, v. 18, p. 1-20, 2015. DOI: 10.1111/ens.12105.
- JAVED, M. A.; BISWAS, S.; WILLIS, L. G.; HARRIS, S.; PRITCHARD, C.; OERS, M. M. van; DONLY, B. C.; ERLANDSON, M. A.; HEGEDUS, D. D.; THEILMANN, D. A. Autographa californica multiple nucleopolyhedrovirus AC83 is a *Per Os* infectivity factor (PIF) protein required for occlusion-derived virus (ODV) and budded virus nucleocapsid assembly as well as assembly of the PIF complex in ODV envelopes. **Journal of Virology**, v. 91, n. 5e02115-16, 2007. DOI: 10.1128/JVI.02115-16.
- JEHLE, J. A.; BLISSARD, G. W.; BONNING, B. C.; CORY, J. S.; HERNIOU, E. A.; ROHRMANN, G. F.; THEILMANN, D. A.; THIEM, S. M.; VLAK, J. M. On the classification and nomenclature of baculoviruses: a proposal for revision. **Archives of Virology**, v. 151, n. 7, p. 1257-1266, May 2006.
- JINN T. R.; KAO S. S.; TSENG Y. C.; CHEN Y.J. ; WU T. Y. Aerosol infectivity of a baculovirus to *Trichoplusia ni* larvae: an alternative larval inoculation strategy for recombinant protein production. **Biotechnology Progress**, v. 25, n. 2, p. 384-389, Mar. 2009. DOI:10.1002/btpr.148.
- KAM, P. C.; FERCH, N. I. Apoptosis: mechanisms and clinical implications. **Anaesthesia**, v. 55, p. 1081-1093, Aug. 2000. DOI:10.1046/j.1365-2044.2000.01554.x.
- KAMITA, S. G.; NAGASAKA, K.; CHUA, J. W.; SHIMADA, T.; MITA, K.; KOBAYASHI, M.; MAEDA, S.; HAMMOCK, B. D. A baculovirus-encoded protein tyrosine phosphatase gene induces enhanced locomotory activity in a lepidopteran host. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, p. 2584-2589, Feb. 2005. DOI:10.1073/pnas.0409457102.
- KATSUMA, S. Baculovirus controls host caterpillars by manipulating host physiology and behavior. **AGri-Bioscience Monographs**, v.5, p. 1-27. Jan. 2015. DOI:/10.5047/agbm.2015.00501.0001.
- KATSUMA, S.; DAIMON, T.; MITA, K.; SHIMADA, T., 2006a. Lepidopteran ortholog of *Drosophila* Breathless is a receptor for the baculovirus fibroblast growth factor. **Journal of Virology**, v. 80, n. 1, p. 5474-5481. DOI: 10.1128/JVI.00248-06.
- KATSUMA, S.; HORIE, S.; DAIMON, T.; IWANAGA, M.; SHIMADA, T. In vivo and in vitro analyses of a *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus mutant lacking functional *vfgf*. **Virology**, v. 355, n. 1, p. 62-70, 2006b. DOI: 10.1016/j.virol.2006.07.008.
- KATSUMA, S.; KOBAYASHI, J.; KOYANO, Y.; MATSUDA-IMAI, N.; KANG, W.; SHIMADA, T. Baculovirus-encoded protein BV/ODV-E26 determines tissue tropism and virulence in lepidopteran insects. **Journal of Virology**, v. 86, p. 2545-2555, 2012. DOI: 10.1128/JVI.06308-11.

- KEDDIE, B. A.; VOLKMAN, L. E. Infectivity difference between the two phenotypes of *Autographa californica* Nuclear Polyhedrosis Virus: Importance of the 64K envelope glycoprotein. **Journal of General Virology**, v. 66, p. 1195-1200, May 1985. DOI: 10.1099/0022-1317-66-5-1195.
- KENNEDY, D. A.; DWYER, G. Effects of multiple sources of genetic drift on pathogen variation within hosts. **PLoS Biology**, v. 16, n. 3e2004444, Mar. 2018. DOI: 10.1371/journal.pbio.2004444.
- KIRKPATRICK, B. A.; WASHBURN, J. O.; ENGELHARD, E. K.; VOLKMAN, L. E. Primary infection of insect tracheae by *Autographa californica* M nuclear polyhedrosis virus. **Virology**, v. 203, n. 1, p. 184-186, 1994. DOI: 10.1006/viro.1994.1472.
- KOST, T. A., CONDREAY, J. P.; JARVIS, D. L. Baculovirus as versatile vectors for protein expression in insect and mammalian cells. **Nature Biotechnology**, v. 23, p. 567-575, May 2005. DOI:10.1038/nbt1095.
- LAPOINTE, R.; THUMBI, D.; LUCAROTTI, C. J. Recent advances in our knowledge of baculovirus molecular biology and its relevance for the registration of baculovirus-based products for insect pest population control. **Integrated Pest Management and Pest Control - Current and Future Tactics**, 2012. Disponível em: <<http://cdn.intechweb.org/pdfs/29618.pdf>>. Acesso em: 29 jul. 2019.
- LEFKOWITZ, E. J.; DEMPSEY, D. M.; HENDRICKSON, R. C.; ORTON, R. J.; SIDDELL, S. G.; SMITH, D. B. 2018. Virus taxonomy: the database of the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). **Nucleic Acids Research**, v. 46, n. D1, p. D708-D717 Oct. 2017. DOI: 10.1093/nar/gkx932.
- LI, X.; LIANG, C. Y.; SONG, J-H.; CHEN, X-W. The ORF 113 of *Helicoverpa armigera* single nucleopolyhedrovirus encodes a functional fibroblast growth factor. **Virologica Sinica**, v. 23, n. 5, p. 321-329, Oct. 2008.
- LIMA, A. A.; ARAGAO, C. W. S.; CASTRO, M.E.B.; OLIVEIRA, J. V. C.; SOSA-GOMEZ, D. R.; RIBEIRO, B. M. A Recombinant *Anticarsia gemmatalis* MNPV harboring *chiA* and *v-cath* genes from *Choristoneura fumiferana* defective NPV induce host liquefaction and increased insecticidal activity. **Plos One**, v. 8, n. 9, e74592, Sept. 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0074592.
- MACEDO, C. V.; TUELHER, E. S.; WOLFF, J. L. C.; VALICENTE, F. H. Characterization of a *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus isolate that does not liquefy the integument of infected larvae. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 111, n. 2, p. 189-192, Oct. 2012. DOI: 10.1016/j.jip.2012.07.010.
- MATOS, T. G. T.; GIUGLIANO, L. G.; RIBEIRO, B. M.; BÁO, S. N. Structural and ultrastructural studies of *Anticarsia gemmatalis* midgut cells infected with the baculovirus *A. gemmatalis* nucleopolyhedrovirus. **International Journal of Insect Morphology and Embryology**, v. 28, n. 3, p. 193-199, July 1999.
- MEANS, J. C.; PASSARELLI, A. L. Viral fibroblast growth factor, matrix metalloproteases, and caspases are associated with enhancing infection by baculoviruses. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 21, p. 9825-9830, 2010. DOI: /10.1073/pnas.0913582107.
- MEHRABADI, M.; HUSSAIN, M.; MATINDOOST, L.; ASGARI, S. The baculovirus antiapoptotic p35 protein functions as an inhibitor of the host RNA interference antiviral response. **Journal of Virology**. v. 89, n. 16, p. 8182-8192, Mar. 2015. DOI: 10.1128/JVI.00802-15.
- MIELE, S. A.; GARAVAGLIA, M. J.; BELAICH, M. N.; GHIRINGHELLI, P. D. 2011. Baculovirus: molecular insights on their diversity and conservation. **International Journal of Evolutionary Biology**, p. 379-424, Feb. 2011. DOI: 10.4061/2011/379424.
- MONSMA, S. A.; OOMENS, A. G.; BLISSARD, G. W. The GP64 envelope fusion protein is an essential baculovirus protein required for cell-to-cell transmission of infection. **Journal of Virology**, v. 70, n. 7, p. 4607-4616, July 1996.

- MOSCARDI, F. A nucleopolyhedrovirus for control of the velvetbean caterpillar in Brazilian soybeans. In: VINCENT, C.; GOETHEL, M. S.; LAZAROVITS, G. (Ed.). **Biological Control: a global perspective**. Oxfordshire: CAB International, 2007. p. 344-352.
- MOSCARDI, F. Assessment of the application of baculoviruses for the control of Lepidoptera. **Annual Review of Entomology**, v. 44, p. 257-289, Jan. 1999. DOI: 10.1146/annurev.ento.44.1.257.
- Moscardi, F. Use of viruses for pest control in Brazil: the case of the nuclear polyhedrosis virus of the soybean caterpillar. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 84, Supl. III, p. 51-56, 1989.
- MOSCARDI, F.; SOUZA, M. L.; CASTRO, M. E. B.; MOSCARDI, M.; SZEWCZYK, B. Baculovirus pesticides: present state and future perspectives. In: AHMAD, I.; AHMAD, F.; PICHTEL, P. (Ed.). **Microbes and microbial technology**. New York: Springer, 2011. p. 415-445.
- MUELLER, J.; PFANZELTER, J.; WINKLER, C.; NARITA, A. LECLAINCHE, C.; NEMETHOVA, M.; CARLIER, M. F.; MAEDA, Y.; WELCH, M. D.; OHKAWA, T.; SCHMEISER, C.; RESCH, G. P.; SMALL, J. V. In: AHMAD I., AHMAD F., PICHTEL P. (Ed.). Electron tomography and simulation of baculovirus actin comet tails support a tethered filament model of pathogen propulsion. **PLoS Biology**, v. 12, n. 1e1001765, Jan. 2014. DOI: 10.1371/journal.pbio.1001765.
- O'REILLY, D. R.; MILLER, L. K. A baculovirus blocks insect molting by producing *ecdysteroid UDP-glucosyl transferase*. **Science**, v. 245, n. 4922, p. 1110-1112, 1989. DOI: 10.1126/science.2505387.
- OGEMBO, J. G.; CHAEYCHOMSRI, S.; KAMIYA, K.; ISHIKAWA, H.; KATOU, Y.; IKEDA, M.; KOBAYASHI, M. Cloning and comparative characterization of nucleopolyhedroviruses isolated from African bollworm, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in different geographic regions. **Journal of Insect Biotechnology and Sericology**, v. 76, n. 1, p. 39-49, 2007. DOI: 10.11416/jibs.76.1_39.
- OHKAWA, T.; VOLKMAN, L. E.; WELCH, M. D. Actin-based motility drives baculovirus transit to the nucleus and cell surface. **Journal of Cell Biology**, v. 190, n. 2, p. 187-195, 2010. DOI: 10.1083/jcb.201001162.
- OLIVEIRA, J. V. C.; WOLFF, J. L. C.; GARCIA-MARUNIAK, A.; RIBEIRO, B. M.; CASTRO, M. E. B.; SOUZA, M. L.; MOSCARDI, F.; MARUNIAK, J. E.; ZANOTTO, P. M. Genome of the most widely used viral biopesticide: *Anticarsia gemmatalis* multiple nucleopolyhedrovirus. **Journal of General Virology**, v. 87, p. 3233-3250, 2006. DOI: 10.1099/vir.0.82161-0.
- O'REILLY, D. R. Baculovirus-encoded Ecdysteroid UDP-glucosyltransferases. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 25, p. 541-550, 1995.
- O'REILLY, D. R.; MILLER, L. K. Improvement of a baculovirus pesticide by deletion of the *EGT* Gene. **Biotechnology**, v. 9, p. 1086-1089, 1991.
- ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **Consensus document on information used in the assessment of environmental applications involving baculoviruses**. Paris, 2002. (Series on harmonization of regulatory oversight in biotechnology, 20).
- ORNITZ, D. M.; ITOH, N. Fibroblast growth factors. **Genome Biology**, n. 2, art. number 3005.1, 2001.
- PASSARELLI, A. L. Barriers to success: how baculoviruses establish efficient systemic infections. **Virology**, v. 411, n. 2, p. 383-392, 2011. DOI: 10.1016/j.virol.2011.01.009.
- PEARSON, M. N.; GROTEN, C.; ROHRMANN, G. F. Identification of the *Lymantria dispar* nucleopolyhedrovirus envelope fusion protein provides evidence for a phylogenetic division of the Baculoviridae. **Journal of Virology**, v. 74, n. 3, p. 6126-6131, 2000.
- PEARSON, M.; BJORNSON, R.; PEARSON, G.; ROHRMANN, G. The *Autographa californica* baculovirus genome: evidence for multiple replication origins. **Science**, v. 257, n. 5075, p. 1382-1384, 1992. DOI: 10.1126/science.1529337.

PENG, K.; VAN OERS, M. M.; HU, Z. H.; VAN LENT, J. W. M.; VLAK, J. M. Baculovirus *per Os* infectivity factors form a complex on the surface of occlusion-derived virus. **Journal of Virology**, v. 84, n. 18, p. 9497-9504, Sept. 2010. DOI: 10.1128/JVI.00812-10.

PETERSON, A. T. Defining viral species: making taxonomy useful. **Virology Journal**, v. 11, art. number 131, 2014.

PINEDO, F. J. R.; MOSCARDI, F.; LUQUE, T.; OLSZEWSKI, J. A.; RIBEIRO, B. M. Inactivation of the ecdysteroid UDP-glucosyltransferase (*egt*) gene of *Anticarsia gemmatalis* nucleopolyhedrovirus (AgMNPV) improves its virulence towards its insect host. **Biological Control**, v. 27, n. 3, p. 336-344, July 2003. DOI: 10.1016/S1049-9644(03)00026-4.

POMBO, V.; VELLOSO, L. M.; RIBEIRO, B. M.; BÁO, S. N. Structural and ultrastructural changes during the infection of UFL-AG-286 cells with the baculovirus AgMNPV. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 72, n. 3, p. 239-245, 1998. DOI: 10.1006/jipa.1998.4788.

RAFAEL, J. A.; MELO, G. A.; CASARI, S. A.; CONSTANTINO, R. **Insetos do Brasil, diversidade e taxonomia**. Ribeirão Preto: Holos, 2012. 795 p.

REDDY, J. T.; LOCKE, M. The size limited penetration of gold particles through insect basal laminae. **Journal of Insect Physiology**, v. 36, n. 6, p. 397-408, 1990. DOI: 10.1016/0022-1910(90)90057-M.

ROHRMANN, G. F. **Baculovirus molecular biology**. 4th edition. Bethesda: National Center for Biotechnology Information, 2019.

ROHRMANN, G. F. Polyhedrin structure. **Journal of General Virology**, v. 67, p. 1499-1513, 1986. DOI: 10.1099/0022-1317-67-8-1499

SANTOS, L. A. V. M.; RIBEIRO, Z. M. A.; FERNANDES, L. S. P.; FERREIRA, A. C. Q.; MOTA, I. S.; GOMES, A. C. M. M.; CRAVEIRO, S. R.; CASTRO, M. E. B. **Análise de patogenicidade de isolados *Chrysodeixis includens* NPV para uso na produção de bioinseticidas**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2019. 22 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 349).

SASAKI, T.; FASSLER, R.; HOHENESTER, E. Laminin: the crux of basement membrane assembly. **Journal of Cell Biology**, v. 164, p. 959-963, Mar. 2004. DOI: 10.1083/jcb.200401058.

SCHMITT, A. T. **Eficiência da aplicação de Baculovirus erinnyis no controle do mandaróvã da mandioca**. Florianópolis: Empasc, 1985. 7 p. (EMPASC. Comunicado técnico, 88).

SHACKELTON, L. A.; HOLMES, E. C. The evolution of large DNA viruses: combining genomic information of viruses and their hosts. **Trends in Microbiology**, v. 12, n. 10, p. 458-465, Oct. 2004. DOI: 10.1016/j.tim.2004.08.005.

SHENG, Z.; CHARBONNEAU, H. The baculovirus *Autographa californica* encodes a protein tyrosine phosphatase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 268, p. 4728-4733, 1993.

SILVEIRA, E. B.; CORDEIRO, B. A.; RIBEIRO, B. M.; BÁO, S. N. Morphological characterization of *Anticarsia gemmatalis* M nucleopolyhedrovirus infection in haemocytes from its natural larval host, the velvet bean caterpillar *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). **Tissue & Cell**, n. 36, p. 171-180, 2004.

SILVEIRA, E. B.; CORDEIRO, B. A.; RIBEIRO, B. M.; CASTRO, M. E. B.; SOARES, E. F.; BÁO, S. N. An *Anticarsia gemmatalis* multiple nucleopolyhedrovirus mutant, vApAg, induces hemocytes apoptosis in vivo and displays reduced infectivity in larvae of *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). **Virus Research**, v. 130, n. 1-2, p. 182-192, Dec. 2007. DOI: 10.1016/j.virusres.2007.06.010.

SILVEIRA, E. B.; RIBEIRO, B. M.; BÁO, S. N. Characterization of larval haemocytes from the velvetbean caterpillar *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology**, v. 35, n. 2, p. 129-139, 2003.

SIMMONDS, P.; ADAMS, M. J.; BENKO, M.; BREITBART, M.; BRISTER, J. R. Consensus statement: virus taxonomy in the age of metagenomics. **Nature Reviews Microbiology**, v. 15, p. 161-168, 2017. DOI: 10.1038/nrmicro.2016.177.

SLACK, J. M.; KUZIO, J.; FAULKNER, P. Characterization of v-cath, a cathepsin L-like proteinase expressed by the baculovirus *Autographa californica* multiple nuclear polyhedrosis virus. **Journal of General Virology**, v. 76, p. 1091-1098, 1995. DOI: 10.1099/0022-1317-76-5-1091.

SOARES, J. S.; RIBEIRO, B. M. Pathology of *Anticarsia gemmatalis* larvae infected by to recombinant *Anticarsia gemmatalis* multicapsid nucleopolyhedroviruses. **Research in Microbiology**, v. 156, n. 2, p. 263-269, 2005. DOI: 10.1016/j.resmic.2004.09.015.

SOSA-GOMEZ, D. R.; MOSCARDI, F.; SANTOS, B. Produção e uso de vírus para o controle de pragas na América Latina. In: ALVES, S. B.; LOPES, R. B. (Ed.). **Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios**. Piracicaba: Fealq, 2008. v. 14, p. 49-68.

STORK, N. E. How many species of insects and other terrestrial arthropods are there on earth? **Annual Review of Entomology**, v. 63, p. 31-45, Jan. 2018. DOI: 10.1146/annurev-ento-020117-043348.

SUMMERS, M. D.; KAWANISHI, C. Y. **Viral pesticides**: present knowledge and potential effects on public and environmental health: symposium proceedings. [S.l.]: Environmental Protection Agency, 1978.

SUTHERLAND, D.; SAMAKOVLIS, C.; KRASNOW, M. A. *Branchless* encodes a *Drosophila* FGF homolog that controls tracheal cell migration and the pattern of branching. **Cell**, v. 87, n. 6, p. 871091-1101, Dec. 1996. DOI: /10.1016/S0092-8674(00)81803-6.

TAY, W. T.; SORIA, M. F.; WALSH, T.; THOMAZONI, D.; SILVIE, P.; BEHERE, G. T.; ANDERSON, C.; DOWNES, S. A brave new world for an old world pest: *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **PLoS One**, n. 8, n. 11e80134, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0080134.

THÉZÉ, J.; BÉZIER, A.; PERIQUET, G.; DREZEN, J.M.; HERNIOU, E. A. Paleozoic origin of insect large dsDNA viruses. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 3, p. 15931-15935, 2011. DOI: 10.1073/pnas.1105580108.

TRUDEAU, D.; WASHBURN, J. O.; VOLKMAN, L. E. Central role of hemocytes in *Autographa californica* M nucleopolyhedrovirus pathogenesis in *Heliothis virescens* and *Helicoverpa zea*. **Journal of Virology**, v. 75, p. 996-1003, 2001.

VALICENTE, F. H. Levantamento dos inimigos naturais de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes regiões do estado de Minas Gerais. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 18, n. 1, p.119-127, 1989.

VALICENTE, F. H.; TUELHER, E. S.; PENA, R. C.; ANDREAZZA, R.; GUIMARÃES, M. R. F. Cannibalism and virus production in *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae fed with two leaf substrates inoculated with *Baculovirus spodoptera*. **Neotropical Entomology**, v. 42, p. 191, 2013.

VOLKMAN, L. E.; KEDDIE, B. A. Nuclear polyhedrosis virus pathogenesis. **Seminars in Virology**, v. 1, p. 249-256, 1990.

WANG, P.; GRANADOS, R. R. An intestinal mucin is the target substrate for a baculovirus enhancin. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 94, p. 6977-6982, June 1997. DOI: 10.1073/pnas.94.13.6977.

WANG, Y.; BININDA-EMONDS, O. R. P.; OERS, M. M. van; VLAK, J. M.; JEHLE, J. A. The genome of *Oryctes rhinoceros* nudivirus provides novel insight into the evolution of nuclear arthropod-specific large circular double-stranded DNA viruses. **Virus Genes**, v. 42, n. 3, p. 444-456, Mar. 2011.

WASHBURN, J. O.; KIRKPATRICK, B. A.; HYRIEN, O.; VOLKMAN L. E. Comparative pathogenesis of *Autographa californica* M nuclear polyhedrosis virus in larvae of *Trichoplusia ni* and *Heliothis virescens*. **Virology**, v. 209, n. 2, p. 561-568, June 1995. DOI: 10.1006/viro.1995.1288.

- WASHBURN, J. O.; LYONS, E. H.; HAAS-STAPLETON, E. J.; VOLKMAN, L. E. Multiple nucleocapsid packaging of *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus accelerates the onset of systemic infection in *Trichoplusia ni*. **Journal of Virology**, v. 73, p. 411-416, Jan. 1999.
- WESTENBERG, M.; UIJTDEWILLIGEN, P.; VLAK, J. M. Baculovirus envelope fusion proteins F and GP64 exploit distinct receptors to gain entry into cultured insect cells. **Journal of General Virology**, v. 88, p. 3302-3306, 2007. DOI: 10.1099/vir.0.83240-0.
- WILLIAMS, G. V.; FAULKNER, P. Cytological changes and viral morphogenesis during baculovirus infection. In: MILLER, L. K. (Ed.). **The baculoviruses**. New York: Plenum Press, 1997. p. 61-108.
- WOLFERSBERG, M. G.; SPAERTH, D. D.; DOW, J. A. T. Observation of the interaction of baculoviruses with the peritrophic membrane of lepidopteran. **American Zoologist**, v. 26, p.74, 1996.
- WOLFF, J. L. C.; VALICENTE, F. H.; MARTINS, R.; OLIVEIRA, J. V. D. C.; ZANOTTO, P. M. D. A. Analysis of the genome of *Spodoptera frugiperda* nucleopolyhedrovirus (SfMNPV-19) and of the high genomic heterogeneity in group II nucleopolyhedroviruses. **Journal of General Virology**, v. 89, p.1202-1211, 2008.
- ZANOTTO, P. M.; KESSING, B. D.; MARUNIAK, J. E. Phylogenetic interrelationships among baculoviruses: evolutionary rates and host associations. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 62, n. 2, p. 147-164, Sept. 1993. DOI: 10.1006/jjpa.1993.1090
- ZHANG, H.; YU, X. K.; LU, X. Y.; ZHANG, J. Q.; ZHOU, Z. H. Molecular interactions and viral stability revealed by structural analysis of chemically treated cypovirus. **Virology**, v. 298, p. 45-52, 2002. DOI: 10.1006/viro.2002.1473.
- ZHENG, Q.; SHEN, Y.; KON, X.; ZHANG, J.; FENG, M.; WU, X. Protein-protein interactions of the baculovirus *per Os* infectivity factors (PIFs) in the PIF complex. **Journal of General Virology**, v. 98, p. 853-861, 2007. DOI: 10.1099/jgv.0.000730.

CAPÍTULO 9

Controle de artrópodes-praga com nematoides entomopatogênicos

Claudia de Melo Dolinski

Nematoides entomopatogênicos (NEPs) são nematoides benéficos que vêm sendo utilizados no controle biológico de insetos-pragas, insetos vetores e artrópodes ectoparasitas no Brasil e no mundo. São assim chamados porque causam doenças e a morte dos insetos e outros hospedeiros. A variedade de espécies e linhagens geográficas os posiciona como organismos com grande potencial no controle de pragas, os quais vêm sendo isolados de solos de diferentes ecossistemas, desde o ártico até os trópicos (Dolinski et al., 2017). O potencial como agentes de controle biológico vem sendo evidenciado, e hoje esses nematoides são considerados uma ferramenta efetiva a ser incorporada em programas de manejo integrado de pragas (MIP), representando uma parte importante dos chamados biocontroladores.

No Brasil, o primeiro estudo com NEPs foi de taxonomia, conduzido por Travassos (1927), que revisou a espécie *Aplectana kraussei*, transferindo-a para um novo gênero denominado *Steinernema*. Posteriormente, Pereira (1937) desenhou o ciclo de vida e descreveu o nematoide *Rhabditis hambletoni*, originalmente encontrada colonizando a broca-do-algodoeiro – *Eutinobothrus brasiliensis* (Hambleton) (Coleoptera: Curculionidae) –, como sendo do gênero *Heterorhabditis*. No entanto, *R. hambletoni* foi perdida, nunca sendo reconhecida como pertencente ao gênero *Heterorhabditis*. Mais recentemente, em 1985, a espécie *Steinernema glaseri* (Steiner) Wouts, Mracek, Gerdin e Bedding foi encontrada parasitando *Migdolus fryanus* (Westwood) (Coleoptera: Vesperidae), praga da cana-de-açúcar (Pizano et al., 1985).

O primeiro teste conduzido em campo com NEPs no Brasil foi realizado por Arrigoni et al. (1986), que avaliaram uma formulação importada de *Steinernema carpocapsae* (Weiser), visando ao controle de *M. fryanus* em cana-de-açúcar. Schmitt et al. (1992) avaliaram outra formulação importada desse nematoide contra o moleque-da-bananeira [*Cosmopolites sordidus* (Germar) (Coleoptera: Curculionidae)].

O primeiro curso sobre NEPs no Brasil iniciou-se em 2002, na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (Uenf), em Campos dos Goytacazes, RJ. Na mesma época, vários grupos de pesquisa foram formados no Rio de Janeiro, em Minas Gerais e em São Paulo, os quais passaram a trabalhar nas áreas de biodiversidade, taxonomia, produção in vivo, produção in vitro, formulação, seleção de isolados, testes de compatibilidade com defensivos e testes em campo.

Este capítulo tem por objetivo descrever de uma forma geral a identificação, a biologia e a ecologia desses agentes de controle biológico, discutir a influência de fatores abióticos e bióticos sobre esses organismos, comentar sobre legislação vigente e ressaltar suas vantagens e desvantagens como controladores biológicos.

TAXONOMIA E IDENTIFICAÇÃO

Entre os animais multicelulares, o filo Nematoda é considerado o grupo mais numeroso e variado. Ocorrem em diferentes ambientes, mas no solo se movimentam no filme de água presente entre as suas partículas. Os membros desse filo são pseudocelomados, com simetria bilateral e filiformes em pelo menos um estágio do seu ciclo de vida.

Nematoides entomopatogênicos pertencem à ordem Rhabditida (Nematoda: Chromadorea), na qual estão localizadas as famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae. A família Steinernematidae possui dois gêneros (*Steinernema* Travassos, 1927, e *Neosteinerinema* Nguyen & Smart, 1994), enquanto a família Heterorhabditidae possui o gênero *Heterorhabditis* Poinar, 1976. Atualmente existem descritas e validadas cerca de 89 espécies do gênero *Steinernema*, uma do gênero *Neosteinerinema* e 22 espécies do gênero *Heterorhabditis*, e mais de 70% delas foram descritas nos últimos 20 anos. Esses nematoides agem em associação simbiótica com γ -proteobactérias da família Enterobacteriaceae. Essas bactérias são móveis, Gram-negativas, produzem toxinas que causam a morte do inseto e antibióticos que impedem o crescimento de outros microrganismos oportunistas. Foram encontrados dois gêneros de bactérias associados a esses nematoides: *Xenorhabdus*, associado

ao gênero *Steinernema*, e *Photorhabdus*, associado ao gênero *Heterorhabditis* (Forst; Clarke, 2002).

Família Steinernematidae

Steiner descreveu *A. kraussei* como a primeira espécie de nematoide entomopatogênico isolado a partir de um cadáver de *Popillia japonica* Newman (Coleoptera: Scarabaeidae), na Alemanha, em 1923. Em 1927, Travassos estabeleceu o gênero *Steinernema* para abrigar essa espécie. Steiner então criou o gênero *Neoaplectana*, mas não estabeleceu características que o distinguissem claramente do gênero anterior, *Steinernema*. Em 1934, Filipjev, ao observar a semelhança entre os dois gêneros, criou a subfamília denominada Steinernematidae, que logo depois foi elevada à condição de família, em 1937, por Chitwood e Chitwood. Os dois gêneros (*Neoaplectana* e *Steinernema*) foram admitidos como válidos, mas as espécies até então descritas estavam incluídas em *Neoaplectana*. Isso prevaleceu por décadas.

Wouts et al. (1982) examinaram a espécie-tipo de *Neoaplectana kraussei* e concluíram que não existiam diferenças entre os dois gêneros, tais como número e arranjo de papilas labiais, por isso propuseram que *Neoaplectana* passasse a ser considerada como sinônimo de *Steinernema*.

Família Heterorhabditidae

A família Heterorhabditidae foi estabelecida por Poinar, em 1976, com um único gênero e com a espécie-tipo *Heterorhabditis bacteriophora*. Esses nematoides são parasitas obrigatórios de insetos e sua biologia é similar à dos steinernematídeos. A espécie *Heterorhabditis heliothidis*, originalmente descrita na família Steinernematidae, tornou-se sinônimo de *H. bacteriophora*.

A capacidade de duas populações de nematoides acasalarem e produzirem progênes determina a espécie biológica e tem sido usada para identificar novas espécies de Steinernematidae. No entanto, na família Heterorhabditidae, existem dificuldades no manuseio dos frágeis machos de *Heterorhabditis*, portanto essa prática não tem sido muito utilizada como ferramenta de identificação para esse gênero. Atualmente, espécies dessas duas famílias vêm sendo identificadas por morfometria das formas adultas e jovem, análise eletroforética de enzimas e análise da sequência das bases do DNA (ITS1 e ITS2²).

BIOLOGIA E ECOLOGIA

Ciclo de vida na família *Steinernematidae*

O ciclo de vida destes nematoides inclui três fases de desenvolvimento: ovo, juvenil e adultos (fêmeas e machos). A fase juvenil é composta por quatro estádios (J1, J2, J3 ou juvenil infectante e J4). O juvenil infectante (JI) é o estágio do nematoide encontrado no solo e o estágio utilizado na aplicação como agente biológico. Os demais estádios são encontrados dentro do hospedeiro infectado. Esses juvenis buscam o hospedeiro e os localizam pelos produtos de excreção, níveis de CO₂ e gradientes de temperatura. A infecção é iniciada com a penetração dos nematoides pelas aberturas naturais (boca, ânus ou espiráculos); dentro do inseto, migram para a hemocele e liberam suas bactérias simbiotes, as quais produzem toxinas e matam o hospedeiro por septicemia (infecção generalizada) em um período de 24 a 48 horas. Além disso, produzem também produtos antimicrobianos para evitar ataques de oportunistas. Multiplicam-se rapidamente para servir de alimento aos Jis, que também se alimentam dos tecidos por elas decompostos, passando então para o estágio J4. Fêmeas e machos (fase adulta) da primeira geração são formados a partir dos J4; as fêmeas de primeira geração colocam ovos que darão origem à segunda geração ainda dentro do cadáver (Forst; Clarke, 2002) (Figura 1). Esses nematoides podem ter duas ou três gerações dentro do hospedeiro, dependendo da disponibilidade de alimento. Quando o alimento se exaure, juvenis no terceiro estágio retêm células da bactéria simbiote em seu interior e abandonam o cadáver como Jis.

Ciclo de vida na família *Heterorhabditidae*

Os NEPs do gênero *Heterorhabditis* também possuem bactérias simbiotes que causam septicemia nos hospedeiros infectados. Os juvenis infectantes que se encontram no solo também buscam e penetram no hospedeiro através de suas aberturas naturais. Contudo, membros desse gênero podem também usar uma projeção quitinosa, muitas vezes chamada de “dente”, presente em sua extremidade anterior, para perfurar a cutícula do hospedeiro. Da mesma forma que o gênero *Steinernema*, dentro do hospedeiro, os JIs migram para a hemocele, onde liberam as bactérias simbiotes.

Apesar de a infecção nos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* ocorrerem de forma similar, neste último há o aparecimento de hermafroditas na primeira geração, em vez de machos e fêmeas. Esses hermafroditas se autofecundam e produzem ovos que darão origem a juvenis que se desenvolverão, transformando-se em adultos

anfimíticos (machos e fêmeas) de segunda geração. Após o acasalamento, surgem novamente ovos e juvenis que, depois de se alimentarem do que restou do cadáver do inseto, vão para o solo em busca de novos hospedeiros completando o ciclo (Adams; Nguyen, 2002) (Figura 1).

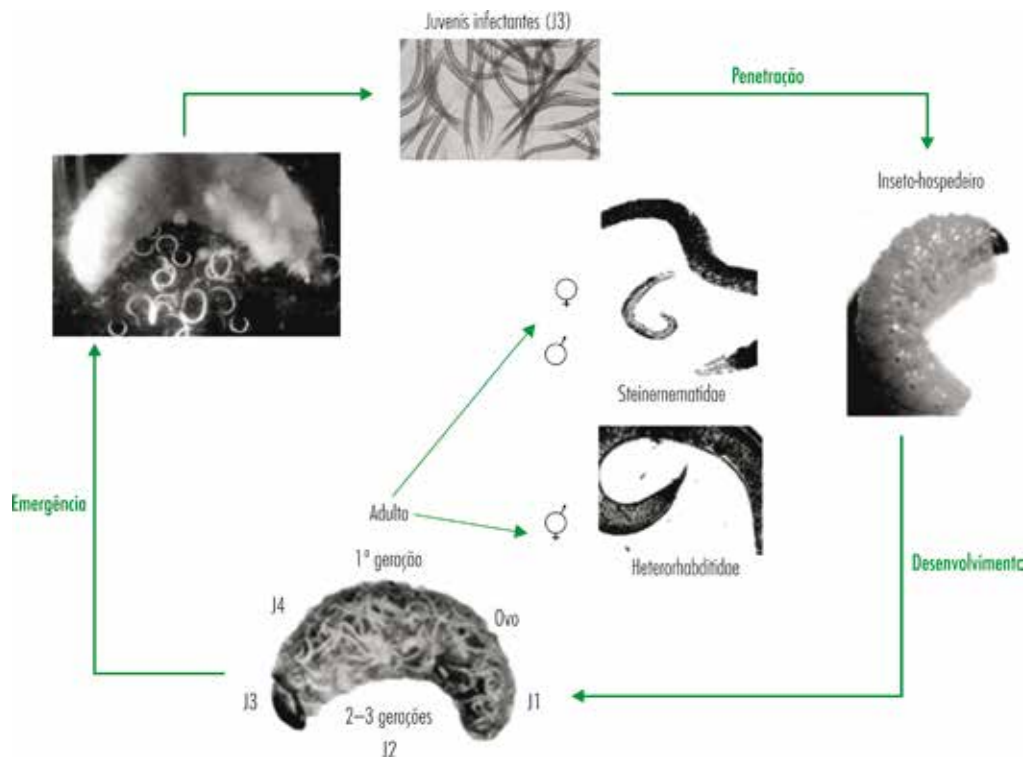


Figura 1. Ciclo de vida dos nematoides entomopatogênicos dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis*.

Fotos: Claudia Dolinski

Os JIs permanecem no solo à procura de um hospedeiro por dias ou meses, graças a um inédito mecanismo de sobrevivência. Quando os JIs emergem do cadáver em direção ao solo, eles conservam a cutícula do estágio J2 e, assim, permanecem com duas cutículas, o que garante sua viabilidade no solo por mais tempo (Kaya, 1990).

FATORES BIÓTICOS E ABIÓTICOS

Fatores bióticos e abióticos são importantes para o uso de nematoides entomopatogênicos no controle de pragas e determinantes para a estratégia de aplicação a ser adotada, uma vez que podem afetar negativamente a sobrevivência dos JIs no solo. Entre os fatores abióticos, os considerados mais importantes são os seguintes:

radiação ultravioleta, temperatura, presença de pesticidas, baixa e alta umidade e textura do solo (Shapiro-Ilan; Dolinski, 2015). Por causa dos efeitos negativos da radiação ultravioleta (UV) sobre os JIs, recomenda-se a aplicação desses ao final da tarde ou cedo pela manhã. Outra forma de evitar exposição aos raios UV é fazer a aplicação desses nematoides no solo subsuperficialmente. No caso de aplicações foliares, é recomendado o uso de espalhantes adesivos e adjuvantes, no intuito de preservar a integridade dos JIs até que penetrem no hospedeiro.

A umidade do solo é importante para a sobrevivência e a mobilidade dos JIs, pois eles se movimentam entre as partículas do solo onde existe água livre. Por isso, a irrigação é recomendada para manter a umidade adequada (Shapiro-Ilan et al., 2006). Apesar de a irrigação ser geralmente requerida, há de se observar que, se o solo estiver encharcado, haverá diminuição do oxigênio livre, o que afetará negativamente os nematoides, que são aeróbicos. Vale ressaltar, contudo, que cada espécie de nematoide entomopatogênico possui um nível ótimo de umidade do solo. Existem espécies que toleram ambientes mais inundados, enquanto outras não (Koppenhöfer et al., 1995).

Ótimas temperaturas para infecção e reprodução também variam entre as espécies de NEPs (Grewal et al., 1994a). Algumas espécies, como *Heterorhabditis indica* Poinar, *S. glaseri* e *Steinernema riobrave* Cabanilla, Poinar e Rauston, são relativamente tolerantes ao calor, enquanto outras espécies, como *Heterorhabditis megidis* Poinar, *Steinernema feltiae* (Filipjev) e *Heterorhabditis marelatus* Lew e Berry, geralmente são mais tolerantes a temperaturas baixas (Grewal et al., 1994b). Espécies e linhagens de NEPs também variam com relação à tolerância ao congelamento. Por exemplo, *S. feltiae* e *Heterorhabditis georgiana* Nguyen, Shapiro-Ilan e Mbata são relativamente tolerantes ao congelamento, enquanto *H. indica* e *Steinernema rarum* Aguera de Dulcet, demonstram ter baixa tolerância (Shapiro-Ilan et al., 2014). A tolerância ao congelamento é especialmente importante para o controle de pragas durante o inverno.

Outro fator que pode afetar os JIs é o pH. Por exemplo, pH 10 ou superior é prejudicial aos NEPs, no entanto valores de pH entre 4 e 8 não exercem qualquer efeito significativo (Kung et al., 1990). Portanto, o pH da maioria dos solos agrícolas provavelmente não terá impacto negativo sobre a sobrevivência dos JIs.

Da mesma forma que a umidade, a textura do solo pode afetar o movimento e a sobrevivência dos JIs (Kaya, 1990). A baixa mobilidade dos JIs no solo pode deixá-los ainda mais expostos a fatores abióticos e bióticos desfavoráveis, o que pode reduzir as chances de encontrarem o hospedeiro. Solos argilosos desfavorecem a movimentação em oposição a solos arenosos. Estudos em laboratório testaram a mortalidade de larvas de *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) depois de os nematoides terem percorrido distâncias de 60 cm a 90 cm em solos das classes francoargiloarenosa e arenosa, respectivamente. Na classe francoargilosa, foi observada

mortalidade até a distância de 30 cm, enquanto em solos argilosos não houve infecção a menos de 30 cm. Solos argilosos possuem aeração reduzida, o que também afeta a sobrevivência e a eficácia dos JIs (Dolinski et al., 2010).

Nematoides entomopatogênicos também podem ser afetados por fertilizantes e pesticidas químicos aplicados no solo. Esses produtos químicos podem ter efeitos positivos, neutros ou negativos sobre os NEPs. Geralmente, fertilizantes aplicados nas doses recomendadas têm pouco impacto sobre a sobrevivência ou virulência de NEPs, o que é uma grande vantagem quando se pensa em aplicar esse nematoides juntamente com adubos químicos (Shapiro-Ilan; Dolinski, 2015). No entanto, altas taxas de fertilizantes químicos (por exemplo, ureia com 560 kg/ha de N) ou estrume fresco podem ser prejudiciais à persistência e eficácia de JIs, mas compostos como esterco podem ser benéficos para reduzir os inimigos naturais de JIs, como os fungos nematófagos. Alguns pesticidas químicos são prejudiciais aos NEPs (por exemplo, abamectina, acefato, aldicarbe, dodina, fenamifós, metomil, parationa metílica e teflubenzuron), enquanto outros tendem a ser compatíveis e, em alguns casos, podem ser sinérgicos quando aplicados com NEPs (por exemplo, carbaril, clorpirifós, dimetoato, endosulfan, fonofós, teflutrina e imidacloprida). Assim como nas interações com outros agentes microbianos, a relação entre pesticidas químicos e NEPs depende de fatores como compostos químicos, espécies ou linhagens de nematoides, dosagens e tempo de aplicação utilizados (Benz, 1971; Koppenhöfer; Grewal, 2005), portanto combinações precisam ser testadas caso a caso.

Organismos como fungos, bactérias e nematoides predadores fazem parte dos fatores bióticos que podem afetar a eficiência dos NEPs em campo. Entre eles, os fungos nematófagos são considerados os mais importantes. As espécies *Arthrobotrys oligospora* Fresenius, *Arthrobotrys conoides* Drechsler e *Duddingtonia flagrans* Cooke têm recebido atenção maior dos pesquisadores, por se tratar de fungos comuns a diversos solos e por possuírem alta capacidade predatória de nematoides. Recomenda-se que, antes de se aplicarem os NEPs em uma determinada área, faça-se um levantamento dos fungos nematófagos existentes no local, uma vez que esses NEPs podem vir a ser predados por esses fungos e ter sua eficiência no controle dos insetos-pragas diminuída. Havendo fungos nematófagos na área, faz-se necessário aumentar a quantidade de juvenis infectantes aplicados.

SINTOMATOLOGIA E SINAIS DE INFECÇÃO

Como mencionado anteriormente, os JIs penetram no hospedeiro, migram para a hemocele e liberam suas bactérias simbiotes. Esses hospedeiros infectados

e mortos, agora chamados de cadáveres, exibem sintomas específicos causados por essas bactérias. Cada espécie de nematoide possui sua bactéria simbiote específica. Essas bactérias, além das toxinas e antimicrobianos, produzem também pigmentos que dão aos cadáveres cores características. Por exemplo, cadáveres infectados pelo complexo *Heterorhabditis-Photorhabdus* adquirem cores avermelhadas ou alaranjadas e são bioluminescentes; enquanto cadáveres infectados pelo complexo *Steinernema-Xenorhabdus* adquirem cores que variam de creme a pardo-escuro, sem apresentar bioluminescência (Figura 2).



Figura 2. Cadáveres de larvas de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) com diferentes cores, que foram infectadas por diferentes espécies de nematoides entomopatogênicos: *Heterorhabditis baujardi* LPP7 (A); *Steinernema carpocapsae* NcAll (B); e *Steinernema feltiae* sfg (C).

Essas bactérias não sobrevivem no meio ambiente, por isso necessitam dos JIs, que as protegem contra as adversidades do ambiente e fazem seu transporte. Por sua vez, os nematoides se beneficiam do alimento por elas provido (Forst; Clarke, 2002). Nos heterorabditídeos, as bactérias se localizam na parte anterior do intestino (Ciche; Ensign, 2003), enquanto nos *Steinernema* as células bacterianas ficam apreendidas em uma vesícula localizada no intestino (Martens; Goodrich-Blair, 2005).

MOBILIDADE

A movimentação dos JIs no solo pode ser classificada como *ambusher* ou *cruiser*. As espécies que utilizam a estratégia *ambusher* promovem uma movimentação própria chamada de nictação, a qual consiste na suspensão do corpo que fica

apoiado apenas na ponta da cauda. A parte anterior do nematoide fica livre aguardando a passagem de um hospedeiro para então “saltar” sobre ele. Os nematoides entomopatogênicos *S. carpocapsae* (Weiser) e *Steinernema scapterisci* Nguyen e Smart são exemplos de espécies que fazem nictação (Figura 3). Os nematoides que apresentam comportamento do tipo *cruiser* buscam ativamente seus hospedeiros no solo e respondem positivamente aos seus sinais voláteis, deslocando-se por uma certa distância até localizá-lo (resposta direcional), como é o caso das espécies *H. bacteriophora* e *S. glaseri* (Ishibashi; Kondo, 1990). Ainda existem espécies de NEPs que, de acordo com a distância que estiverem do hospedeiro, apresentam ambas as características (*ambusher* e *cruiser*), como é o caso de *S. feltiae* (Grewal et al., 1994a).

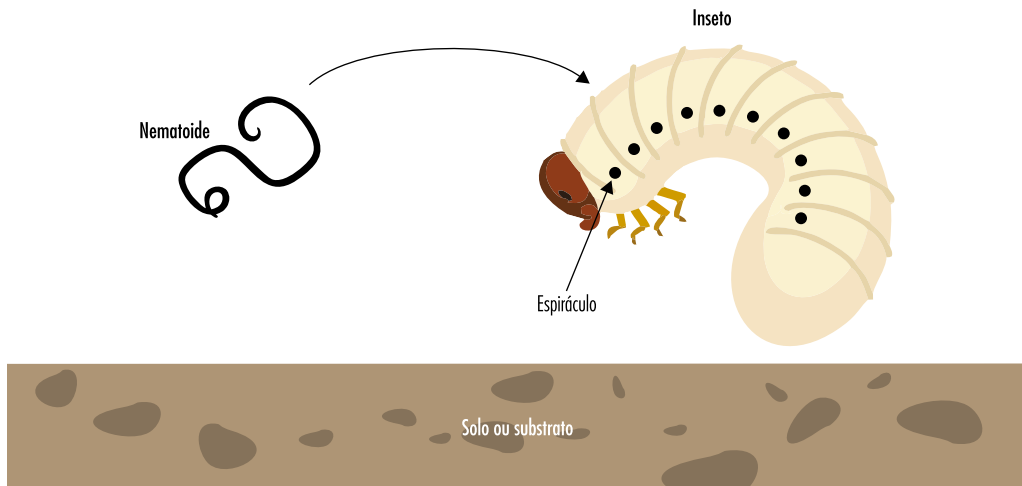


Figura 3. Ilustração de um nematoide após a nictação, que, em seguida, “pula” sobre o hospedeiro.

USO DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS

Pesquisadores norte-americanos foram os primeiros a usar nematoides entomopatogênicos como agentes de controle biológico, introduzindo até mesmo espécies de outros países. A grande demanda por esses nematoides nos Estados Unidos na década de 1980 levou muitos grupos de pesquisadores de vários países do mundo a isolar novas espécies e linhagens. Essas amostragens e isolamentos expandiram em muito a disponibilidade de germoplasma de nematoides entomopatogênicos para pesquisa e ampliaram o movimento de isolados de um país para outro. Embora benéfico, esse intercâmbio entre pesquisadores aumentou o risco da introdução de nematoides entomopatogênicos exóticos indesejáveis. Por exemplo, os nematoides *S. scapterisci* e *S. feltiae* foram introduzidos, multiplicados e comercializados sem critério, visando ao controle de pragas nos Estados Unidos. Isso resultou

em muitas críticas por parte de alguns pesquisadores, dando origem, mais tarde, a uma legislação específica sobre introdução de espécies exóticas de agentes de controle biológico (Rizvi et al., 1996) pelo Serviço de Inspeção Sanitária Animal e Vegetal (Aphis – do inglês Animal and Plant Health Inspection Service) do Departamento de Agricultura dos EUA (Usda – do inglês United States Department of Agriculture). Consta das normas a exigência da Estudo de Impacto Ambiental (EIA) ou Declaração de Impacto Ambiental (EIS – do inglês Environmental Impact Statement) para introdução de agentes microbianos de controle.

Na Europa, a situação foi um pouco diferente. Enquanto discussões estavam ocorrendo nos Estados Unidos, na Europa um comitê foi estabelecido para analisar os possíveis problemas associados com a introdução de nematoides exóticos. Os membros desse comitê concluíram que evidências científicas davam suporte à premissa de que nematoides entomopatogênicos são inócuos a animais de sangue quente e que poucos riscos ao ambiente haviam sido identificados. Esse comitê também concluiu que nematoides entomopatogênicos são organismos benéficos que vinham sendo usados há muitos anos sem causar problemas, além de serem específicos a seus hospedeiros e representarem menor ameaça ao ambiente do que os pesticidas químicos comumente utilizados (Ehlers; Hokkanen, 1996). O comitê recomendou então que os nematoides entomopatogênicos não precisariam de registro, mas que a introdução dos isolados exóticos fosse regulada.

A importação de agentes de controle biológico é atualmente regulada por vários países. A legislação australiana é a que vem sendo considerada uma das mais eficientes do mundo, pois exige inicialmente uma permissão federal para importação de um organismo, seguindo os procedimentos da agência de proteção ambiental daquele país (De Nardo et al., 1998).

Os nematoides podem ser usados no controle biológico de duas formas: inoculativa e inundativa (ver Capítulo 1 para mais explicações). O impacto causado por NEPs após aplicações inundativas, que consiste na liberação do agente em grandes quantidades sobre a cultura afetada pela praga-alvo, foi estudado por Barbercheck; Millar (2000). Segundo esses autores, NEPs teriam o potencial de infectar espécies não alvo suscetíveis, que passam uma fase de seu ciclo de vida no solo no momento da aplicação dos nematoides. É importante enfatizar que as minhocas não são suscetíveis a esses nematoides. Com relação aos vertebrados, inúmeros NEPs foram testados em diversas espécies, desde peixes até macacos. Apenas girinos de sapos e rãs se mostraram suscetíveis quando nematoides foram adicionados à água onde estavam. Akhurst e Smith (2002) acreditam, no entanto, que as dosagens usadas em ambos os testes com girinos tenham sido demasiadamente altas e que outras doses menores deveriam ter sido testadas.

Portanto, antes de qualquer introdução de NEPs em uma área, deve-se observar: a) o impacto desses nematoides em organismos não alvo; b) os efeitos desses nematoides no microcosmos local, principalmente com relação a outros nematoides; e c) sua capacidade de deslocar ou eliminar nematoides entomopatogênicos existentes no local (nativos).

Finalizando, as bactérias entomopatogênicas associadas aos NEPs não são consideradas perigosas ao ambiente, pois aparentemente sua permanência no solo é mínima, já que não possuem formas de sobrevivência, como algumas bactérias esporulantes (Akhurst; Smith, 2002).

PROGRAMAS DE CONTROLE BIOLÓGICO

Existem inúmeros casos de sucesso no controle de pragas por nematoides entomopatogênicos no mundo. Talvez os mais comentados sejam o controle do curculionídeo-das-raízes-do-citrus [*Diaprepes abbreviatus* L. (Coleoptera: Curculionidae)] em laranjais com *S. riobrave* e o controle de paquinhas [*Scapteriscus didactylus* Latreille e *Scaptiriscus abbreviatus* Scudder (Gryllotalpidae: Scapteriscus)] com *S. scapterisci* em gramados (Dolinski et al., 2012). Outros bons exemplos podem ser vistos em Campos-Herrera (2015).

No Brasil, muitos experimentos em campo vêm evidenciando o potencial dos NEPs para o controle de pragas em diversos cultivos, como banana (*Musa* spp.), café (*Coffea* spp.), cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*), goiaba (*Psidium guajava*) e ornamentais. Contudo, hoje o único registro existente no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) é o do produto à base de *Steinernema puertoricense* Roman & Figueroa para o controle do bicudo-da-cana-de-açúcar [*Sphenophorus levis* (Vaurie) (Coleoptera: Curculionidae)].

DESAFIOS E PERSPECTIVAS

Nematoides entomopatogênicos infectam e matam hospedeiros de dezenas de famílias e ordens de insetos. Algumas características que os fazem potenciais controladores de pragas e vetores são as seguintes: a) Jls podem ser produzidos de maneira barata em insetos hospedeiros ou em meios artificiais; b) podem ser armazenados; c) são facilmente aplicados em campo na água de irrigação ou pulverizados; d) possuem a habilidade de buscar ativamente o hospedeiro; e) são compatíveis com a maioria dos

pesticidas; f) são seguros a invertebrados e vertebrados; g) reproduzem-se no hospedeiro produzindo novas gerações; h) possuem um estreito espectro de hospedeiros e podem, às vezes, ser muito específicos, por isso não há risco de causarem mortalidade indiscriminada de organismos não alvo. Um pequeno espectro de hospedeiros significa que é necessário escolher o NEP mais adequado ao controle de uma dada praga.

A principal limitação na utilização dos NEPs é a sua produção, tanto *in vivo* como *in vitro*. Na produção *in vivo*, há um limite de crescimento (*scale-up*), pois, a partir de certo nível, o custo com espaço e mão de obra passa a ser inviável. A multiplicação *in vitro* em meio líquido precisa ser estudada com mais afinco antes de ser implementada. Por tratar-se de um método mais elaborado, deve-se fazer uma boa pesquisa de mercado para constatar a real necessidade de produzir grandes quantidades de JIs com alta aplicação de recursos. Esse tipo de produção deve estar associado à formulação em pó molhável ou em grânulos para satisfazer os grandes mercados. Essa tecnologia é cara, e isso pode ser uma desvantagem, pois o produto biológico chegaria ao mercado com preços mais elevados do que produtos químicos disponíveis.

Existe grande potencial na utilização dos NEPs como agentes do controle biológico de pragas e vetores. Contudo, para que realmente haja sucesso, a escolha do nematoide/linhagem deve ser feita com critério e parcimônia. Nematoides nativos devem ser devidamente identificados quanto à linhagem, e sua biologia e alguns aspectos ecológicos devem ser definidos antes que sejam aplicados em campo. A utilização de nematoides nativos deve ter prioridade sobre os exóticos, que devem ser aplicados em último caso, respeitando-se as condições impostas pela legislação vigente. Os nematoides nativos já estão adaptados às condições climáticas como também à entomofauna local. Como não se conhece o impacto real que esses nematoides exóticos podem causar aos nativos, recomenda-se que, pelo menos, sejam feitos testes em laboratório contra espécies não alvo encontradas na área a ser aplicada. Esses nematoides exóticos devem ser aplicados localmente e cuidados extras devem ser tomados para que não sejam dispersos.

REFERÊNCIAS

ADAMS, B. J.; NGUYEN, K. B. Taxonomy and systematics. In: GAUGLER, R. (Ed.). **Entomopathogenic nematology**. New York: Cabi Publishing, 2002. p. 1-33.

AKHURST, R.; SMITH K. Regulation and safety. In: GAUGLER, R. (Ed.). **Entomopathogenic nematology**. New York: Cabi Publishing, 2002. p. 311-332.

- ARRIGONI, E. B.; DINARDO, L. L.; CONDE, A. J.; TERÁN, F. O. Aplicação de *Neoplectana carpocapsae* Weiser, 1955 em condições de campo para o controle de *Migdolus* spp. (Coleoptera: Cerambycidae). **Nematologia Brasileira**, v. 8, p. 181-189, 1986.
- BARBERCHECK, M. E.; MILLAR, L. C. Environmental impacts of entomopathogenic nematodes used for biological control in soil. In: Follett, P. A.; Duan, J. J. (Ed.). **Non-target effects of biological control**. Boston: Kluwer Academic Publishers, 2000. p. 287-308.
- BENZ, G. Synergism of micro-organisms and chemical insecticides. In: BURGESS D.; HUSSEY N. W. (Ed.). **Microbial control of insects and mites**. London: Academic Press, 1971. p. 327-355.
- CAMPOS-HERRERA, R. **Nematode Pathogenesis of Insects and other pests**. [S.l.]: RAQUEL-CAMPOS-HERRERA, 2015. DOI: 10.1007/978-3-319-18266-7_11. (Sustainability in Plant and Crop Protection, 1).
- CICHE, T. A.; ENSIGN, J. C. For the insect pathogen *Photorhabdus luminescens*, which end of a nematode is out? **Applied Environmental Microbiology**, v. 69, p. 1890-1897, 2003. DOI: 10.1128/AEM.69.4.1890-1897.
- DE NARDO, E. A. B.; MORAES, J. G.; SÁ, L. A. n. Regulamentação do uso de agentes microbianos de controle. In: Alves, S. B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: Fealq, 1998, p. 1119-1142.
- DOLINSKI, C.; CHOO, H. Y.; DUNCAN, L. W. Grower acceptance of entomopathogenic nematodes: case studies on three continents. **Journal of Nematology**, v. 44, n. 2, p. 226-235, Jun. 2012.
- DOLINSKI, C.; MONTEIRO, C.; AANDALÓ, V.; LEITE, L. G. Studies on entomopathogenic nematodes in Brazil: past and future. **Nematoda**, v. 4, 2017. DOI: 10.4322/nematoda.01017.
- DOLINSKI, C.; PINTO, C. C. S.; BELLINI, L. L. Efeito de substratos com diferentes classes texturais na mobilidade do nematoide entomopatogênico *Heterorhabditis baujardi* LPP7 (Rhabditida: Heterorhabditidae). **Nematologia Brasileira**, v. 34, p. 123-128, 2010.
- EHLERS, R. U.; HOKKANEN, H. M. T. Insect control with non-endemic entomopathogenic nematodes (*Steinernema* and *Heterorhabditis* spp.): conclusions and recommendations of a combined OECD and COST workshop on scientific and regulatory policy issues. **Biocontrol Science and Technology**, v. 6, n. 3, p. 295-302, 1996. DOI: 10.1080/09583159631280.
- FORST, S.; CLARKE, D. Bacteria-Nematode Symbiosis In: Gaugler R. (Ed.). **Entomopathogenic Nematology**. New York: Cabi Publishing, 2002. p. 57-77.
- GREWAL, P. S.; LEWIS, E.; GAUGLER, R.; CAMPBELL, J. F. Host finding behavior as a predictor of foraging strategy in entomopathogenic nematodes. **Parasitology**, v. 108, n. 2, p. 207-215, Feb. 1994a. DOI: 10.1017/S003118200006830X.
- GREWAL, P. S.; SELVAN, S.; GAUGLER, R. Thermal adaptation of entomopathogenic nematodes: niche breadth for infection, establishment and reproduction. **Journal of Thermal Biology**, v. 19, n. 4, p. 245-253, 1994b.
- ISHIBASHI, N.; KONDO, E. Behaviour of infective juveniles. In: GAUGLER, R.; KAYA, H. K. (Ed.). **Entomopathogenic nematodes in biological control**. Boca Raton: CRC Press, 1990. p. 139-150.
- KAYA, H. K. Soil ecology. In: GAUGLER, R.; KAYA, H. K. (Ed.). **Entomopathogenic nematodes in biological control**. Boca Raton: CRC Press, 1990. p. 93-115.
- KOPPENHÖFER, A. M.; GREWAL, P. S. Compatibility and interactions with agrochemicals and other biocontrol agents. In: GREWAL P. S.; EHLERS R. U.; SHAPIRO-ILAN D. I. (Ed.). **Nematodes as biological control agents**. Wallingford: Cabi, 2005. p. 363-381.
- KOPPENHÖFER, A. M.; KAYA, H. K.; TAORMINO, S. P. Infectivity of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae) at different soil depths and moistures. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 65, n. 2, p. 193-199, Mar. 1995. DOI: 10.1080/09583159631280.

KUNG, S.; GAUGLER, R.; KAYA, H. K. Influence of soil pH and oxygen on persistence of *Steinernema* spp. The **Journal of Nematology**, v. 22, n. 4, p. 440-445, Oct. 1990.

MARTENS, E. C.; GOODRICH-BLAIR, H. The *Steinernema carpocapsae* intestinal vesicle contains a subcellular structure with which *Xenorhabdus nematophila* associates during colonization initiation. **Cell Microbiology**, v. 7, n. 12, p. 1723-1735, July 2005. DOI: 10.1111/j.1462-5822.2005.00585.x.

PEREIRA, C. *Rhabditis hambletoni* n.sp. nematoide aparentemente semi-parasito da broca do algodoeiro. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 8, p. 125-135, 1937.

PIZANO, M. A.; AGUILLERA, M. M.; MONTEIRO, A. R.; FERROY, L. C. C. B. Incidência de *Neoaplectana glaseri* Steiner, 1929 (Nematoda: Steinernematidae) parasitando ovo de *Migdolus fryanus* (Westwood, 1863) (Col: Cerambycidae). In: CONGRESSO BRASILEIRA DE NEMATOLOGIA, 9., 1985, Piracicaba. **Reunião...** Piracicaba, 1985. p. 9-10.

RIZVI, S. A.; HENNESSEY, R.; KNOTT D. Legislation on the introduction of exotic nematodes in the US. **Biocontrol Science and Technology**, v. 6, n. 3, p. 477-480, Jun. 1996. DOI: 10.1080/09583159631433.

SCHMITT, A. T.; GOWEN, S. R.; HAGUE, N. G. M. Baiting techniques for the control of *Cosmopolites sordidus* Germar (Coleoptera: Curculionidae) by *Steinernema carpocapsae* (Nematoda: Steinernematidae). **Nematropica**, v. 22, n. 2, p. 159-163, Dec. 1992.

SHAPIRO-ILAN, D. I.; BROWN, I.; LEWIS, E. E. Freezing and desiccation tolerance in entomopathogenic nematodes: diversity and correlation of traits. The **Journal of Nematology**, v. 46, n. 1, p. 27-34, Mar. 2014.

SHAPIRO-ILAN, D. I.; GOUGUE, G. H.; PIGGOTT, S. J.; FIFE, J. P. Application technology and environmental considerations for use of entomopathogenic nematodes in biological control. **Biological Control**, v. 38, n. 1, p. 124-133, 2006. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2005.09.005.

SHAPIRO-ILAN, D.; DOLINSKI, C. Entomopathogenic nematode application technology. In: Campos-Herrera, R. (Ed.). **Nematode Pathogenesis of Insects and Other Pests**. [S.l.]: Springer International Publishing, 2015. p. 231-254.

TRAVASSOS, L. Sobre o gênero *Oxysomatium*. **Boletim Biológico**, v. 5, p. 20-21, 1927.

WOUTS, W. M.; MRÁČEK, Z.; GERDIN, S.; BEDDING, R. A. *Neoaplectana* Steiner, 1929 a junior synonym of *Steinernema* Travassos, 1927 (Nematoda: Rhabditida). **Systematic Parasitology**, v. 4, n. 2, p. 147-154, July, 1982.

PARTE 3

CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS, PLANTAS INVASORAS E FITONEMATOIDES

CAPÍTULO 10

Controle de doenças de plantas

Sueli Corrêa Marques de Mello

Bárbara Eckstein

Eder Marques

Daniel Diego Costa Carvalho

O modelo de exploração agrícola adotado ao longo dos anos, ao privilegiar o cultivo de certas espécies em detrimento de outras e, ainda, ao reduzir a base genética dentro das espécies de plantas cultivadas, aumenta os riscos de ocorrência de epidemias. Conter essas epidemias é um dos grandes desafios da agricultura moderna, em razão da velocidade com que elas se disseminam em áreas com monocultivos. Por outro lado, associado aos efeitos residuais tóxicos causados pelo uso contínuo de defensivos químicos, verifica-se o aumento da pressão para selecionar determinados genes e o predomínio de populações de fitopatógenos resistentes aos fungicidas químicos utilizados. A consequência disso é o desequilíbrio populacional, com exacerbada ocorrência de doenças antes consideradas de importância secundária. Esses fatos podem, em muitos casos, até mesmo inviabilizar o uso de fungicidas químicos, considerando o grande número de aplicações que se tornam necessárias. Por causa desse problema cada vez mais grave, as medidas de controle hoje estimuladas já não visam à eliminação total de espécies nocivas, mas a restituição do equilíbrio ecológico, reduzindo as perdas agrícolas a níveis aceitáveis. Isso pode ser conseguido com a adoção do controle biológico, ou a incorporação desse método de controle dentro de um sistema de manejo integrado, que possibilite reduzir o uso dos fungicidas químicos.

Entre os agentes de controle biológico, estão os microrganismos de vida livre (saprofíticos), os colonizadores de superfícies vegetais e hiperparasitas (fungos que colonizam fungos fitopatogênicos) e os colonizadores de tecidos internos das plantas (endofíticos). São representantes de diversos táxons, principalmente fungos verdadeiros (reino Fungi), “fungos” do filo Oomicota (reino Chromista) e bactérias.

Logo, os agentes de controle biológico possuem morfologia, ecologia, ciclo de vida e estratégias de sobrevivência variadas.

As primeiras observações sobre o controle biológico de doenças de plantas remontam o início do século 19 (Biocyclopedia, 2012). Sanford (1926) sugeriu o controle da sarna da batata (*Streptomyces scabies*) por adubação verde e propôs dois conceitos para controle de doenças: a) microrganismos saprofíticos podem controlar a atividade de agentes patogênicos nas plantas e b) o equilíbrio microbiano do solo pode ser mudado com alteração das condições do solo. Millard e Taylor (1927) também relataram o controle da sarna da batata em solo estéril inoculado simultaneamente com o patógeno *S. scabies* e o *Streptomyces praecox*, um vigoroso saprófita. Sanford e Broadfoot (1931) demonstraram que a infecção de plantas de trigo por *Ophiobolus graminis* em solo esterilizado poderia ser completamente suprimida por ação antagonista de várias espécies de fungos e bactérias individualmente coinoculadas. Weindling (1932, 1934) relatou o parasitismo exercido por *Trichoderma* spp. contra fungos de solo, introduzindo a técnica de confrontação direta de culturas (pareamento de culturas) e iniciou, junto com colaboradores, uma série experimentos sobre o controle de *Rhizoctonia solani* e outros patógenos usando *Trichoderma lignorum*. Como extensão dessas pesquisas, Weindling e Emerson (1936) extraíram metabólitos secundários de filtrados de culturas, responsáveis pela ação antagonista. Desde então, relevantes estudos foram realizados, abrangendo aspectos moleculares, testes de laboratório e de campo, até o desenvolvimento comercial de biopesticidas à base de fitopatógenos. No Brasil, apesar de ser mais recente – o primeiro artigo foi publicado em 1950 sobre a inativação do vírus do mosaico do fumo (Tobacco mosaic virus – TMV) por filtrados de cultura de *Trichoderma* – e marcado por interrupções (Bettiol; Morandi, 2009), o controle biológico vem apresentando grande avanço nos últimos 10 anos.

CONCEITO DE CONTROLE BIOLÓGICO APLICADO A DOENÇAS DE PLANTAS

De acordo com Cook e Baker (1983), um conceito amplo de controle biológico de doenças de plantas é: “A redução da densidade do inóculo em seu estado ativo ou dormente, ou das atividades determinantes de doenças, através de um ou mais organismos, realizado naturalmente ou através da manipulação do ambiente, hospedeiro, ou antagonista, ou pela introdução massal de um ou mais antagonistas”. Com base nesse conceito, práticas culturais que consistem na manipulação do ambiente

em favor dos microrganismos benéficos residentes, como a rotação de culturas, que auxilia no balanço ecológico entre patógenos e seus antagonistas, são consideradas estratégias de controle biológico. Porém, o conceito menos abrangente que será utilizado neste capítulo é o de que controle biológico se refere ao uso proposital de organismos introduzidos ou residentes (excluindo o uso de plantas resistentes), para suprimir as atividades e/ou a população de um ou mais patógenos de plantas (Pal; Gardener, 2006). Porém, é fato que o controle biológico ocorre naturalmente e, assim sendo, muitos estudos devem ser voltados para a ecologia microbiana, buscando um mais completo entendimento dos mecanismos envolvidos no controle biológico e o paralelismo entre mudanças nas atividades microbianas e níveis de supressividade do solo a doenças (Alabouvette et al., 2006).

Atividades determinantes de doenças

Crescimento, infectividade, virulência, agressividade e outras características inerentes ao patógeno ou processos que determinam a penetração, colonização, desenvolvimento de sintomas e reprodução nos tecidos do hospedeiro.

É importante mencionar que, ao lado dos microrganismos, certos invertebrados também podem contribuir para o controle biológico de fitopatógenos, como os nematoides que se alimentam de bactérias patogênicas presentes no solo. Citem-se também algumas amebas (e outros protozoários) que são conhecidas por atacar leveduras, pequenos esporos e hifas fúngicas. Esses organismos são geralmente predadores não específicos, cuja importância relativa no controle biológico não está ainda bem compreendida, por isso não serão assunto neste capítulo.

ABORDAGENS USADAS

De acordo com Cook (1982), o controle biológico pode ser obtido pelas seguintes abordagens:

- Redução da população do patógeno por meio do uso de microrganismos antagonistas, que destroem o inóculo do patógeno e/ou reduzem o vigor e a agressividade do inóculo.
- Proteção da superfície da planta com microrganismos estabelecidos em ferimentos, em folhas ou na rizosfera, onde eles funcionam como barreiras, por meio de ação competitiva, antibiótica ou parasítica.
- Estabelecimento de agentes não patogênicos dentro da planta ou em áreas infectadas, para estimular resistência da planta ao patógeno ou ocupar os sítios de infecção.

ESTRATÉGIAS DE UTILIZAÇÃO DE MICRORGANISMOS COMO AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO

O controle biológico foi proposto como método de controle de doenças de plantas durante o simpósio realizado na Universidade da Califórnia, Berkeley, em 1963: *Ecologia de Patógenos de Plantas Habitantes do Solo: prelúdio para o controle biológico* (Baker; Sinyder, 1965). Na ocasião, duas estratégias foram sugeridas: o aumento das populações de inimigos naturais, ou antagonistas, pela manipulação do ambiente e a introdução de linhagens selecionadas de agentes de biocontrole. Desde então, a maioria das pesquisas foram dirigidas à segunda estratégia, que consiste basicamente na seleção de antagonistas eficazes e no desenvolvimento de bioprodutos baseados em linhagens únicas, consideradas efetivas em condições experimentais. Essa estratégia, denominada inundativa ou de biofungicida, para ser

bem-sucedida, depende da disponibilidade de formulações efetivas do agente de biocontrole, de sobrevivência dele durante a estocagem e de sua rápida multiplicação e colonização após inoculação.

Exemplos de formulações comerciais disponíveis no mercado nacional e mundial incluem espécies de *Trichoderma* usadas contra diversos patógenos de solo e de partes aéreas, como *R. solani*, *Pythium* spp., *Fusarium* spp., *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii*, *Botrytis cinerea*, *Phytophthora* spp., *Gaeumannomyces graminis*, *Verticillium dahliae*, *Alternaria* spp., *Phomopsis* sp., *Colletotrichum* sp., *Cercospora* sp., *Ascochyta* sp., *Macrophomina phaseolina* (Harman, 2006; Kaewchai et al., 2009; Heydari; Pessaraki, 2010; Parveen et al., 2016); *Coniothyrium minitans*, um micoparásita aplicado contra *Sclerotinia* spp. (Choudhary; Johri, 2009); *Chaetomium* spp., usado contra *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora parasitica*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium* spp., *S. rolfsii*, *Drechslera maydis* e *Sclerotinia* spp. (Kaewchai et al., 2009); *Ampelomyces quisqualis*, aplicado no controle de oídios (Kaewchai et al., 2009); *Pythium oligandrum*, contra *Pythium ultimum* (Kaewchai et al., 2009); *Agrobacterium radiobacter* T34, uma linhagem específica usada contra a galha da coroa das rosáceas (*Agrobacterium tumefaciens*); *Bacillus subtilis*,

Microrganismos antagonistas

Os antagonistas são microrganismos com potencial para interferir no crescimento ou sobrevivência dos patógenos diretamente, contribuindo, desse modo, para o controle biológico. Podem ser:

Residentes — Habitantes naturais do solo (rizosfera, rizoplano), filoplano ou outros sítios ocupados pelo patógeno. Podem ser multiplicados em laboratório e, então, reintroduzidos no ambiente, para potencializar sua ação.

Não residentes — Microrganismos exóticos, ou isolados de outros nichos ecológicos, podem ser cultivados e aplicados aos sítios onde são necessários (no solo, nas sementes, atomizados sobre as folhas e outros órgãos das plantas, ou misturados aos substratos). Certos antagonistas apresentam ação de supressão de patógenos que atacam os frutos na pós-colheita, sendo aplicados diretamente na superfície de frutos, raízes e tubérculos colhidos.

Pseudomonas fluorescens e *Pseudomonas aureofaciens*, contra vários patógenos, causadores de damping-off e podridões de raízes (Berg, 2009; Choudhary; Johri, 2009). Antagonistas, incluindo leveduras, fungos filamentosos e bactérias, são também usados como agentes de controle de doenças de pós-colheita, como *B. cinerea* e *Penicillium* spp., em frutos e vegetais. Alguns desses agentes são as bactérias *Botrytis pumilus* e *Botrytis amyloliquefaciens*, para controle da podridão-cinzenta (*B. cinerea*), em diversos produtos, e da podridão olho de boi da maçã (causada pelo fungo *Cryptosporiopsis perennans*); as leveduras *Candida* spp., entre outras, são utilizadas para controlar o mofo-azul (*Penicillium expansum*) e o mofo-verde (*Penicillium italicum*) da laranja e da maçã e a podridão de *Rhizopus*, em diversos produtos (Parveen et al., 2016); formulações a base do fungo *Clonostachys rosea* (Morandi et al., 2003; Liu et al., 2017) são utilizadas em cultivos protegidos de rosas, tomate e morango, entre outros. Vários desses agentes de controle biológico (ACBs) citados são princípios ativos de produtos registrados no Brasil (Brasil, 2017).

MECANISMOS E MODO DE AÇÃO

O controle biológico pode resultar de interações diretas ou indiretas entre os microrganismos benéficos e os fitopatógenos. Os mecanismos de biocontrole são complexos, influenciados pelas condições ambientais e pela presença de outros microrganismos (Howell, 2003). O contato do agente de biocontrole com o fitopatógeno pode ser físico (interação direta ou antagonismo direto) ou envolver a síntese de compostos antimicrobianos, tais como enzimas hidrolíticas e antibióticos, assim como a competição por espaço físico, água, luz e nutrientes. A interação indireta pode vir como resultado da resistência induzida na planta hospedeira ou da suplementação da matéria orgânica no solo para aumentar a atividade antagonista contra o patógeno (Kaewchai et al., 2009). Dentro dessa visão, o hiperparasitismo exercido sobre um fungo fitopatogênico por seu parasita obrigatório é considerado o tipo mais direto de antagonismo. Já o estímulo de mecanismos de defesa na planta por um microrganismo não fitopatogênico seria a forma mais

Hipovirulência

Virulência reduzida, especialmente de linhagens ou raça de um patógeno infectado com vírus ou dsRNA (do inglês, *double-stranded RNA*). Hipovírus podem ser transmitidos horizontalmente por troca citoplasmática mediante contato de hifas. Um exemplo recente é o controle biológico do declínio do castanheiro (*Castanea sativa*) na Europa pelo uso de linhagens do fungo *Chryphonectria parasitica* infectadas com *Cryphonectria hypovirus 1* (CHV1), um vírus de dsRNA não encapsulado do gênero *Hypovirus* (Pereira et al., 2015). O patógeno pode causar cancro, destruição e morte da árvore e é prontamente disseminado pelo comércio de material de propagação de castanha infectado e outros tecidos hospedeiros. Originário da Ásia, esse patógeno causou severas epidemias em populações endêmicas na América do Norte e Europa. Um surto da doença no nordeste de Vitória, na Austrália, desencadeou uma campanha de erradicação naquele país, iniciada em 2010.

indireta de antagonismo. Essa última estratégia difere da estratégia mais comumente utilizada no controle microbiano de insetos, que consiste exclusivamente no uso de parasitas para matar diretamente os insetos-praga (Nega, 2014).

É interessante observar que, embora muitas pesquisas sejam dirigidas ao entendimento de mecanismos específicos de controle biológico para determinados patossistemas, os agentes de controle de fitopatógenos mais efetivos estudados até o momento parecem utilizar mecanismos distintos, simultaneamente. O que se define como controle biológico pode ser o auge de uma série de mecanismos atuando sinergisticamente para alcançar o controle da doença (Howell, 2003). *Pseudomonas* spp., produtoras do antibiótico 2, 4-diacetilfloroglucinol (DAPG), associado ao declínio do mal do pé do trigo, causado por *G. graminis*, comentado mais adiante em detalhes, podem induzir mecanismos de defesa na planta hospedeira e também colonizar raízes eficazmente. Todas essas características da bactéria podem contribuir para sua capacidade de suprimir a atividade do patógeno na rizosfera do trigo. Outro exemplo é a capacidade de certas linhagens de *Trichoderma* spp. de parasitar fungos fitopatogênicos habitantes do solo e, também, de produzirem antibióticos e enzimas degradadoras de paredes desses patógenos. Muitas dessas linhagens são, ainda, hábeis competidoras por recursos naturais da rizosfera e promovem o crescimento das plantas, provavelmente pela produção de substâncias similares aos fito-hormônios (Nega, 2014). Os principais mecanismos de biocontrole serão detalhados a seguir.

Competição

A competição é um mecanismo que ocorre quando dois ou mais organismos necessitam do mesmo recurso (espaço, nutrientes, água) e o uso deste diminui a quantidade disponível para o outro. Microrganismos considerados fortes competidores são aqueles mais evoluídos quanto aos mecanismos de sobrevivência e metabolismo de fontes nutricionais, possuindo tolerância ao estresse competitivo para se estabelecer no micro-habitat ocupado.

Muitos dos fitopatógenos necessitam penetrar e colonizar internamente os tecidos da planta hospedeira para ter acesso aos seus nutrientes, iniciando o processo de infecção a partir da sua superfície. Em certos casos, principalmente para fitobacterioses, é necessário que o patógeno primeiramente se estabeleça na superfície da planta, e somente quando atingirem um nível populacional mínimo é que se inicia a produção dos fatores de virulência responsáveis pelo processo de invasão da planta. Os agentes de controle biológico interferem no estabelecimento e infecção da planta pelos fitopatógenos, ao impedirem o acesso aos nutrientes da planta para sua multiplicação e/ou aos sítios de penetração (locais utilizados pelos fitopatógenos para

entrar na planta, como os estômatos). O agente de biocontrole pode também modificar a rizosfera, acidificando o solo a um nível em que o patógeno não consegue crescer (Benítez et al., 2004). Esses são os motivos pelos quais o rápido estabelecimento do inimigo natural e sua alta capacidade de competir pelos nutrientes exsudados pela planta são considerados características importantes de um agente de controle biológico. Um bom agente de biocontrole de fungos de solo, por exemplo, deve possuir rizocompetência, isto é, capacidade de colonizar raízes vegetais, ocupando os sítios de penetração/infecção utilizados pelo patógeno. Seu desempenho aumenta significativamente se, além de utilizar eficientemente os nutrientes, também for capaz de secretar substâncias nocivas aos fitopatógenos, entre elas antibióticos e enzimas degradadoras de parede de fungos, assunto que será abordado em seções subsequentes.

Rizocompetência

Pode ser demonstrada pelo simples plaqueamento de fragmentos esterizados de raízes em placas com meio de cultura. Após um período de incubação adequado, o microrganismo pode ser observado crescendo de todas as partes do fragmento radicular (Howell, 2003).

Micoparasitismo

A interação antagonista estabelecida entre espécies de fungos diferentes, referida como micoparasitismo ou hiperparasitismo, representa uma associação muito interessante do ponto de vista do controle biológico. Essa interação pode ser classificada, de acordo com a agressividade parasítica para os hospedeiros, em dois tipos: biotrófica e necrotrófica. Os hiperparasitas biotróficos são geralmente parasitas obrigatórios, portanto são incapazes de sobreviverem sem seus hospedeiros. Eles possuem alta especificidade e reconhecimento dos organismos parasitados, obtendo nutrientes e compostos por eles produzidos, muitas vezes sem evidência de danos (Melo; Faull, 2000; Cortes-Penagos et al., 2007). Os hiperparasitas necrotróficos, por sua vez, são parasitas facultativos que destroem o protoplasma do hospedeiro, nutrindo-se da matéria orgânica morta, por isso despertam maior atenção como agentes de biocontrole, pois os danos, nesse caso, são maiores.

O hiperparasitismo envolve os seguintes passos: 1) quimiotropismo, ou crescimento do antagonista em direção ao hospedeiro, provavelmente, em resposta a estímulos químicos atribuídos à presença de lectinas presentes na superfície do hospedeiro; 2) reconhecimento e ligação do micoparásita ao hospedeiro, por meio do crescimento de hifas paralelas ou enrolamento das hifas do parasita em volta das células hospedeiras; 3) ataque, degradação e lise da parede celular; 4) morte do hospedeiro e exploração do seu conteúdo. O parasita pode penetrar na célula hospedeira por mecanismos de pressão ou por estruturas especializadas, como

apressórios ou *plugs* de penetração. A morte do hospedeiro pode ser induzida por toxinas em conjunção com a degradação enzimática da parede celular (Cortes-Penagos et al., 2007).

Entre as enzimas líticas produzidas e secretadas por agentes de controle biológico, responsáveis pela degradação de parede celular de fungos, estão as quitinases, celulases, hemicelulases, β 1,3-glucanases, lipases e proteases. A maioria das atividades enzimáticas relatadas para diferentes espécies de fungos tem como alvos os componentes estruturais da parede celular. Ao degradarem paredes celulares de fungos fitopatogênicos, essas enzimas contribuem diretamente para a supressão dos patógenos de plantas (Cortes-Penagos et al., 2007). Em diversos agentes de controle biológico que atuam por esse modo de ação, particularmente no caso de fungos do gênero *Trichoderma*, a secreção de enzimas líticas parece ter importância significativa para sua atuação como biocontroladores. Tem sido postulado que paredes celulares de fungos são também degradadas por quitinases bacterianas. Mas, em adição a quitinases, as bactérias requerem outros fatores para lise de hifas fúngicas. Assume-se que a completa lise e degradação de hifas observadas, por exemplo, na interação *Arthrobacter-Pythium debaryanum*, deve-se à atividade de enzimas líticas produzidas pela bactéria, embora antibióticos possam ser produzidos ao mesmo tempo (Rosas, 2007). Evidências da relevância dessas enzimas no controle biológico têm sido definidas por meio de estudos em nível molecular, focados em clonagem, sequenciamento, análise e eliminação ou over-expressão de genes que codificam para produção e excreção dessas enzimas no micoparasita (Cortes-Penagos et al., 2007).

Antibiose

Antibiose é uma associação entre dois organismos com prejuízos ao menos para um dos dois, em razão da produção de compostos antimicrobianos, principalmente metabólitos secundários (MSs). Os compostos incluem antibióticos, enzimas líticas, substâncias voláteis, sideróforos, peptídeos, proteínas, fenóis, terpenos, poliketídeos, entre outros (Haggag; Mohamed, 2007; Ramírez Granillo et al., 2015).

Tamanha é a importância da antibiose para os microrganismos, que muitos agentes de controle biológico direcionam boa parte de sua energia para sua realização. Por exemplo, a bactéria *Bacillus subtilis* possui, em média, de 4% a 5% do seu genoma composto por genes para a síntese de compostos antimicrobianos (Stein, 2005). Espécies de *Trichoderma* são prolíficas produtoras de metabólitos secundários, com estrutura de mais de 100 desses compostos relatados. A publicação da sequência genômica completa da espécie *Trichoderma reesei*, de interesse industrial, seguida de duas espécies antagonistas (*Trichoderma virens* e *Trichoderma atroviride*), bem como

estudos genéticos comparativos dessas três espécies, forneceram informações importantes sobre os genes relacionados a propriedades antifúngicas de *Trichoderma*, incluindo genes envolvidos na produção de metabolismo secundário (Zeilinger et al., 2016). Esses estudos revelaram um vasto repertório de genes envolvidos na biossíntese de metabólitos secundários, entre os quais pironas, terpenoides, esteroides, poliquetídeos e peptaibols. Muitos membros do gênero *Trichoderma* são prominentes produtores de peptaibols, peptídeos lineares biologicamente ativos contendo entre 7 e 20 resíduos de aminoácidos, principalmente não proteinogênicos (ácido aminoisobutírico e isovalina). Os peptaibols são ecologicamente e comercialmente importantes, com propriedades antimicrobianas e anticâncer, além de possuírem habilidade para induzir resistência sistêmica em plantas contra a invasão de patógenos. Entre os metabólitos desse grupo, o mais conhecido é o alamethincin produzido por *Trichoderma viride*. Para muitos desses compostos, sua implicação na habilidade de biocontrole dos microrganismos que os produzem ainda carece de estudos experimentais. Estudos com trichorzianin produzido por *Trichoderma harzianum* forneceram evidências de uma ação sinérgica contra *B. cinerea* entre esse peptaibol e a enzima β -1,3 – glucanase, responsável pela degradação de parede celular de fungo fitopagênico durante a atividade micoparasítica (Lorito et al., 1996). Em mistura com essa enzima, trichorzianin inibiu a atividade da β -glucanase sintase no patógeno, impedindo a reconstrução da parede da célula patogênica, enquanto causou vazamentos de membrana e desordens metabólicas, facilitando a ação destrutiva da parede celular.

Gliotoxin foi o primeiro metabólito descrito para *Trichoderma* (Weindling, 1934; Weindling; Emerson, 1936), descoberto com base nas suas propriedades antifúngicas (Mukherjee et al., 2012). Trata-se de um fungistático implicado no antagonismo contra *R. solani*, produzido pela espécie *T. lignorum*, posteriormente classificada como *Gliocladium virens*, e, hoje, como *T. virens* (*Hypocrea virens*, na fase sexuada). As propriedades antifúngicas de gliotoxin são sinérgicamente potencializadas pelas enzimas que degradam a parede celular produzidas por *T. harzianum* e *T. virens*. Gliovirin é outro composto com potentes propriedades microbianas, ativo contra Oomcetes (Howell, 2006; Mukherjee et al., 2012).

O potencial de fungos do gênero *Trichoderma* para produzir numerosos tipos de metabólitos secundários é refletido nos genomas sequenciados, das três espécies. Por exemplo, o genoma de *T. virens* contém 440 genes relacionados à biossíntese desses metabólitos; o total para *T. atroviride* e *T. reesei* é de 349 e 262, respectivamente (Mukherjee et al., 2012). Sequências de mais seis genomas (*Trichoderma asperellum*, *T. harzianum*, *Trichoderma paareesei*, *Trichoderma gamsii*, *Trichoderma longibrachiatum* e *Trichoderma citroviride*) estão depositadas em banco de dados público, aguardando análise detalhada (Zeilinger et al., 2016).

A produção de terpenoides e de vários outros metabólitos voláteis (MV) por linhagens de *Trichoderma* spp. tem sido detectada por meio de extração em fase sólida combinada com cromatografia gasosa. Alguns desses compostos foram produzidos por um período de tempo definido e sua acumulação foi atrasada pelo ácido fusárico, uma micotoxina de *Fusarium*, sugerindo que há interação com o fungo hospedeiro e a planta na rizosfera. Essa é uma área para estudos bastante promissora. O terpenoide viridín é largamente produzido por *T. virens*. Esse composto é reduzido a viridiol, um potente herbicida, pelo organismo que o produz (Mukherjee et al., 2012).

Um sumário dos compostos antimicrobianos produzidos por agentes de controle biológico é mostrado na Tabela 1.

Os compostos antimicrobianos podem ser específicos contra um grupo de microrganismos, como fungos, bactérias ou vírus, ou, ainda, em algumas situações, atuarem sobre grupos distintos de fitopatógenos. O ácido harziânico (AH) é um metabólito secundário de *T. harzianum*, com atividade antifúngica contra *Pythium irregulare*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *R. solani*, também atuando na promoção de crescimento de plantas (Vinale et al., 2013, 2014). Tanto o crescimento de patógenos fúngicos quanto de plântulas de canola foram afetados por tratamentos com AH, de forma dependente de concentração, sugerindo o papel desse metabólito na regulação do crescimento, como também no antagonismo contra agentes fitopatogênicos. Experimentos conduzidos pelos autores supracitados mostraram que AH é um sideróforo, um tipo de composto que “sequestra” o ferro (Fe) no ambiente do solo.

Sideróforos e absorção de ferro (Fe)

O Fe é um microelemento de importância vital para todos os seres vivos. A maior parte do Fe presente na rizosfera se encontra na forma férrica (Fe^{3+}), como hidróxidos insolúveis. Os sideróforos são compostos orgânicos quelantes de íons férricos, que são excretados na proximidade dos microrganismos que os produzem. Esses compostos, de baixo peso molecular, formam ligações estáveis com o Fe presente na rizosfera, solubilizando-o. Dessa forma, além de suprir suas próprias necessidades desse mineral, também o disponibilizam prontamente para absorção pelas raízes das plantas.

O repertório de metabólitos secundários sintetizados por microrganismos é extenso. Entretanto, a produção dessas substâncias é espécie – ou mesmo linhagem – dependente, e não todo o repertório será biossintetizado por um dado microrganismo sob condições de laboratório, pois um estímulo específico pode ser requerido para produzi-los (Zeilinger et al., 2016). As funções por eles exercidas nas plantas são diversas, a maioria é benéfica. Entretanto, efeitos negativos de algumas dessas substâncias também têm sido relatados, particularmente com respeito à germinação de sementes de algumas espécies vegetais. Por exemplo, trichosetin, de *T. harzianum*, isolado de culturas pareadas, inibiu crescimento de raízes em cinco espécies de plantas, incluindo o tomate (*Lycopersicon esculentum*), provavelmente por dano à membrana celular (Marfori et al., 2003). Efeito negativo em *L. esculentum* foi também verificado por Montalvão (2012), em sementes

Tabela 1. Metabólitos tóxicos produzidos por fungos e bactérias agentes de controle biológico contra seus patógenos-alvo.

Espécie	Metabólito	Alvo	Fonte
<i>Trichoderma virens</i>	Gliotoxin	<i>Rhizoctonia solani</i>	Howell (2003)
	Gliovirin	<i>Pythium</i>	
<i>Trichoderma cerinum</i>	Cerinolactona	<i>Pythium ultimum</i> , <i>R. solani</i> e <i>Botrytis cinerea</i>	Vinale et al. (2014)
<i>Clonostachis rosea</i>	Glisoprenins	<i>Magnaporthe grisea</i>	Sterner et al. (1998)
<i>Trichoderma koningii</i> , <i>Trichoderma viride</i> e <i>Trichoderma virens</i>	Viridin	<i>T. koningii</i> , <i>T. viride</i> , <i>T. virens</i> , <i>B. allii</i> , <i>Colletotrichum lini</i> , <i>Fusarium caeruleum</i> , <i>Penicillium expansum</i> e <i>Aspergillus niger</i>	Reino et al. (2008), Vinale et al. (2014)
<i>Chaetomium globosum</i>	Chaetomin	<i>P. ultimum</i>	Di Prieto et al. (1992)
<i>Coniothyrium minitans</i>	Macrosphelide A 3(2H) - Benzofuranones	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> e <i>S. cepivorum</i>	Krohn et al. (1992)
<i>Trichoderma polysporum</i> , <i>T. koningii</i> , <i>T. viride</i> e <i>Trichoderma harzianum</i>	Trichodermin, Trichodermol, Harzianum A	<i>Cladosporium</i> spp.	Patil et al. (2016)
<i>Trichoderma brevocompacum</i> , <i>T. harzianum</i>	Trichodermin	<i>R. solani</i>	Xu-Ping et al. (2015)
<i>T. viride</i> , <i>T. atroviride</i> , <i>T. harzianum</i> e <i>T. koningii</i>	6-pentyl-2H-pyran- 2-one [6-pentyl- α - pyrone (6PP)]	<i>Fusarium moniliforme</i>	El-Hasan e Buchenauer (2009), Patil et al. (2016)
<i>T. harzianum</i>	Harzianopiridona	<i>B. cinerea</i> , <i>R. solani</i> , <i>Gaeumannomyces</i> <i>graminis</i> var. <i>tritici</i> e <i>P. ultimum</i>	Vinale et al. (2014) Patil et al. (2016)
	Ácido harziânico	<i>P. irregulare</i> , <i>S. sclerotiorum</i> e <i>R. solani</i>	Vinale et al. (2014), Patil et al. (2016)
	Azaphilone	<i>R. solani</i> , <i>P. ultimum</i> e <i>G. graminis</i> var. <i>tritici</i>	Vinale et al. (2014), Patil et al. (2016)
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Bacilisina difícidina	<i>Xanthomonas oryzae</i>	Wu et al. (2015)
<i>Bacillus subtilis</i>	Fengicina	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>Cucurbitae</i> , <i>Pectobacterium</i> <i>carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>	Zeriouh et al. (2011)
<i>Paenibacillus polymyxa</i>	Grupo fusaracidina	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>nevim</i>	Raza et al. (2008)

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Espécie	Metabólito	Alvo	Fonte
<i>Streptomyces</i> sp.	Streptoone	<i>Clavibacter michiganensis</i> , <i>Phytophthora capsici</i>	Tian et al. (2017)
<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	2-hidroxi-fenazina-1-ácido carboxílico	<i>G. graminis</i> var. <i>tritici</i>	Maddula et al. (2008)
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Fenazina-1-ácido carboxílico	<i>F. oxysporum</i>	Upadhyay e Srivastava (2011)
<i>P. fluorescens</i>	Pioluteorina	<i>P. ultimum</i>	Howell e Stipanovic (1980)

microbializadas. Compostos com efeitos negativos incluem trichosetin, trichocaranes, konionginins e uma forma de harzianopyridona. Esse último composto causou necrose em feijão, tabaco e milho, de maneira dependente de concentração. *Trichoderma virens* produz o viridol, eficaz para controle de algumas espécies de plantas daninhas (Héraux et al., 2005). Portanto, conhecer o repertório de antibióticos e outros metabólitos dos microrganismos antes de aplicá-los é um requerimento básico, já que alguns deles causam efeitos tóxicos às plantas, ou são herbicidas em potencial e devem ser evitados para uso no controle de doenças de plantas, enquanto outros são benéficos às plantas, antagonizando patógenos, promovendo crescimento ou induzindo resistência de plantas a doenças (Mukherjee et al., 2012).

De fato, certos compostos antimicrobianos contribuem significativamente para a atuação dos agentes de biocontrole e podem também ser isolados e sintetizados para produção em larga escala e comercialização. No Brasil, o produto kasumin, à base do antibiótico cassugamicina, produzido pela bactéria *Streptomyces kasugaensis*, está registrado para uso em mais de 50 culturas, sendo indicado para o controle de doenças fúngicas e bacterianas – Agrofit (Brasil, 2017).

Esses metabólitos, embora de origem biológica, são classificados como produtos químicos da classe dos antibióticos. O uso do antibiótico como princípio ativo é muitas vezes polêmico, pois seu uso indiscriminado pode levar à seleção e proliferação de bactérias resistentes, envolvendo questões relacionadas à saúde pública.

Indução de resistência de plantas

O termo resistência induzida (IR) é genérico e refere-se a um estado de resistência expresso em plantas

Streptomyces kasugaensis

Bactéria pertencente ao filo Actinobactéria. Nesse filo estão bactérias gram-positivas conhecidas como actinomicetes. Possuem organização filamentosa, muitas vezes ramificada, e produzem esporos, à semelhança dos fungos. A espécie *S. kasugaensis* vem sendo utilizada como agente de controle biológico há mais de 50 anos.

contra agressões aos ataques de patógenos, infestações de insetos ou qualquer tipo de estresse. Ele pode ser desencadeado por diversos fatores, bióticos ou abióticos, incluindo patógenos e bactérias promotoras de crescimento de plantas, lesões físicas ou quaisquer indutores químicos (Kumar et al., 2016). Considerando os sistemas de defesa das plantas contra os patógenos, a resistência de plantas pode ser dividida em duas categorias: passiva e ativa. Fatores de resistência passiva são aqueles que estão presentes na planta antes do seu contato com o patógeno (pré-formados). Fatores de resistência ativa compreendem aqueles que estão ausentes ou em concentrações baixas na planta e são ativados ou produzidos pelo ataque de fitopatógenos ou por estímulos de organismos não fitopatogênicos (Misaghi, 1982). Diversos fungos e bactérias, incluindo agentes de controle biológico, possuem a capacidade de ativar o sistema de defesa das plantas contra os fitopatógenos. Logo, a indução de resistência das plantas contra fitopatógenos é mais um dos mecanismos de biocontrole das doenças de plantas. Esse é um mecanismo indireto, já que o agente de biocontrole não age diretamente sobre o patógeno, mas produz estímulos para ativação de mecanismos de defesa na planta contra o agressor.

A planta se defende do ataque de patógenos por duas vias, a da resistência sistêmica adquirida (RSA) e da resistência sistêmica induzida (RSI). Embora fenotipicamente RSA e RSI sejam similares e muitas vezes esses termos sejam usados como sinônimos, a primeira diz respeito à reação de resistência na planta em razão da infecção por patógenos, enquanto a segunda resulta da interação planta-organismo não patogênico. Claramente, RSA é caracterizada pelo acúmulo de ácido acetil salicílico, produzido com frequência após a infecção por patógenos e que tipicamente leva à expressão de proteínas relacionadas à patogênese; RSI é mediada por ácido jasmônico (JA) e/ou etileno, produzidos quando da indução de resistência, normalmente através de microrganismos e/ou insetos (Choudhary et al., 2007). No caso dos microrganismos, a maioria dos indutores são fungos e bactérias não patogênicos que colonizam a rizosfera e ativam a via de defesa mediada por ácido jasmônico. A indução da defesa pode ser local, quando somente a região que esteve em contato com o agente indutor da resistência é ativada, ou sistêmica, quando, através de um sinal (ácido salicílico ou ácido jasmônico e etileno), outras partes da planta que não estavam em contato com o agente indutor de resistência também produzem compostos químicos e estruturais para a defesa contra o patógeno (Misaghi, 1982).

A resistência de plantas a doenças não é induzida pelo agente de controle biológico como um todo, mas por moléculas específicas que podem estar presentes na superfície da célula bacteriana/fúngica ou podem ser secretadas por esses microrganismos, que irão desencadear a resposta de defesa na planta. Vários compostos originados de fungos e bactérias são capazes de induzir a resistência (Tabela 2). Tem

sido constatado que certos isolados de rizobactérias promotoras do crescimento de plantas elicitam a resistência sistêmica (RSI) pela emissão de compostos orgânicos voláteis – COVs (Lee et al., 2012). Observa-se, com base nos exemplos apresentados na Tabela 2, que um mesmo microrganismo é capaz de induzir a resistência em diferentes hospedeiros vegetais e que, em muitos casos, o microrganismo produz mais de um composto que induz a resistência. Outro aspecto importante relacionado a esse mecanismo é que, de uma forma geral, a defesa ativada tem efeito sobre vários patógenos, incluindo vírus, bactérias, fungos e nematoides.

Tabela 2. Exemplos de determinantes de resistência induzida (ISR) por agentes de controle biológico.

Agente microbiano	Planta	Determinante	Fonte
<i>Trichoderma virens</i> (isolado Gv29-8)	Milho	Proteína Sm1	Djonović et al. (2007)
<i>Trichoderma harzianum</i> (isolado Gv29-8)	Milho	Celulase	Saravanakumar et al. (2016)
<i>Pseudomonas simiae</i> WCS417	Arabidopsis	Compostos voláteis orgânicos (COVs)	Zamioudis et al. (2015)
<i>Bacillus pumilus</i> (isolado 203-6)	Beterraba	Peroxidase, quitinase e β -1,3-glucanase	Bargabus et al. (2002)
<i>Pseudomonas putida</i> (isolado WCS358)	Arabidopsis	Lipopolissacarídeos e sideróforo	Meziane et al. (2005)
<i>Bacillus</i> spp.	Várias	Lipopeptídeos: surfactina e fengicina	Ongena e Jacques (2008)

O mecanismo de indução de resistência contra fitopatógeno pode contribuir em maior ou menor grau para a supressão de doenças. A capacidade de a planta se defender do patógeno por meio desse mecanismo depende da velocidade com a qual ela consegue expressar os fatores de defesa e da quantidade produzida desses compostos (Choudhary et al., 2007).

Promoção do crescimento das plantas

Vários microrganismos são considerados promotores de crescimento das plantas. Esse efeito é verificado na germinação de sementes, enraizamento, brotação de estacas, crescimento de ramos, incremento de área foliar, atraso da senescência e incremento no rendimento das culturas. Muitos desses microrganismos, por aumentarem a absorção de nutrientes, podem ser utilizados em formulações, como biofertilizantes. Nem todo promotor de crescimento é biofertilizante, e o efeito na planta pode ser decorrente da atividade de controle de fitopatógenos.

O reconhecimento de bactérias como promotoras de crescimento de plantas (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria* – PGPR, em inglês) e do aumento de rendimento das espécies cultivadas vem de longa data (Kloepper; Schroth, 1978). O termo foi adotado pela comunidade científica e engloba todas as bactérias benéficas associadas às plantas ou a habitantes da rizosfera. Hoje se sabe que bactérias presentes no interior de outras partes vegetais (endofíticas), não somente no sistema radicular, podem promover o crescimento das plantas, sendo também incluídas no grupo das PGPRs (Glick, 2012). *Pseudomonas* spp., especialmente *P. fluorescens*, emergiram como o grupo de PGPR potencialmente mais promissor. Porém, outras bactérias encontradas nos gêneros *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. amyloliquefaciens*, *B. firmus* e *B. liquiniformes*), *Azotobacter*, *Azospirillum* e *Rhizobium*, entre outras, também vêm sendo estudadas como promotoras de crescimento de plantas, por diferentes mecanismos (Podile; Kishore, 2006; Kumar et al., 2011). Bactérias promotoras do crescimento exercem um efeito direto no crescimento das plantas pela produção de fitormônios, solubilização de fosfatos orgânicos e inorgânicos, produção de sideróforos, fixação de nitrogênio, além da síntese de compostos voláteis que afetam as rotas de sinalização na planta, favorecendo o seu desenvolvimento. Como complemento, através da antibiose, competição por espaço e nutrientes, produção de enzimas extracelulares e indução da resistência sistêmica em plantas contra um amplo espectro de patógenos radiculares e foliares, essas bactérias reduzem a população de patógenos e outros microrganismos deletérios, beneficiando de forma indireta o crescimento das plantas (Glick, 2012). Posto isso, o agente de biocontrole pode ter efeito indireto na promoção do crescimento de plantas, da mesma forma que considera-se que microrganismos promotores de crescimento de plantas tenham efeito indireto no controle de doença. Dentro dessas circunstâncias, diferentes mecanismos agem de modo sinérgico para induzir crescimento e suprimir doenças de plantas.

De modo semelhante às bactérias, certos fungos, incluindo leveduras, além de possuírem habilidade para atacar e/ou inibir o crescimento de fitopatógenos, podem induzir resistência sistêmica no hospedeiro. Aliado a isso, esses organismos influenciam substancialmente o crescimento e desenvolvimento de plantas (Sandheep et al., 2013), pelas mesmas vias utilizadas pelas bactérias.

Os mecanismos envolvidos na promoção de crescimento de plantas, utilizados tanto por microrganismos da rizosfera quanto por endofíticos, incluem a produção de reguladores de crescimento, tais como auxinas, citocininas, giberelinas e etileno (Glick, 2012). Auxina (ácido indolacético – AIA) é capaz de controlar vários processos distintos, como alongação celular e inicialização da divisão celular. Em associação com citocinina, atua no controle da dominância apical e retarda o envelhecimento das plantas. Combinados, esses dois fito-hormônios podem induzir o desenvolvi-

mento da raiz (Skoog; Moleiro, 1957). As giberelinas atuam como estimuladores do crescimento de caules e folhas; exercem pouco efeito sobre crescimento de raízes, porém, em conjunto com as citocininas, desempenham importante papel na germinação das sementes; juntamente com as auxinas, atuam no desenvolvimento de frutos. Já o etileno influencia o crescimento vegetal, incluindo abscisão de frutos e folhas (Santos, 2008).

O etileno é sintetizado na planta como resposta a vários estresses ambientais, denominados “estresses de etileno”, entre os quais se incluem, além de diversos fatores abióticos, a ação de insetos predadores e ataque de patógenos (vírus, fungos e bactérias). Plantas expostas a estresse respondem rapidamente pela produção de pequenos picos de etileno, iniciando-se uma reação protetiva, como a transcrição de genes que codificam proteínas de defesa. Se o estresse persiste ou se intensifica, um segundo pico, e muito maior, de etileno ocorrerá, induzindo processos de senescência, clorose e abscisão, os quais podem levar a uma significativa inibição de crescimento e sobrevivência (Glick, 2012).

A mobilização de nutrientes é importante para o bom desenvolvimento das plantas. Mesmo quando há quantidades adequadas de nutrientes no solo, as plantas podem mostrar sintomas de deficiência. O fósforo (P), adicionado como fertilizante químico na forma mineral, reage com os componentes do solo, formando complexos pouco solúveis e, desse modo, permanece inacessível para as plantas na sua maior parte. O fósforo inorgânico é derivado de formas de P ligado ao cálcio (Ca-P), em solos calcários, ao manganês (Mn-P) e ao alumínio (Al-P); enquanto o P orgânico é derivado de plantas, animais e microrganismos em decomposição. Esse é encontrado no solo como fosfatos de inositol, fosfolipídeos, ácidos nucleicos, entre outros. Os microrganismos exercem importante papel, tanto na solubilização de fosfatos, como também na mineralização do P orgânico, tornando-o prontamente disponível para absorção pelas plantas. A liberação do fosfato inorgânico ocorre pela produção de ácidos, tais como ácido cítrico, ácido glutâmico, ácido lático, ácido fumárico, ácido málico e ácido tartárico, entre outros, por bactérias e fungos. Já na hidrólise do P orgânico, a enzima fosfatase desempenha papel fundamental, assim a fosfatase microbiana presente no solo tem participação importante nesse processo (Aeron et al., 2011).

O Fe é um elemento essencial para a vida. Embora abundante na natureza, a forma dominante no solo é o Fe^{+3} , de difícil absorção pelas plantas. A produção de sideróforos por microrganismos benéficos presentes na rizosfera é pensada como um mecanismo de promoção de crescimento de plantas. Esses compostos formam complexos férricos, que são reconhecidos por receptores de membrana. Ao se ligarem às proteínas receptoras presentes na superfície celular do organismo que

os produzem, tornam o Fe indisponível para o patógeno (Glick, 2012). Inúmeras espécies de plantas são capazes de utilizar complexos sideróforos microbianos como meio de obter Fe do solo. O composto pyoverdine produzido por espécies de *Pseudomonas* tem sido implicado no biocontrole de espécies de *Pythium* e *Fusarium*. Vários outros sideróforos são produzidos por *Pseudomonas* spp., tais como pseudobactrin, pyrochelin, quinolobactrin e ácido salicílico, além de pyoverdine. Linhagens microbianas capazes de produzir sideróforos em resposta à limitação de íons férricos prontamente disponíveis possuem vantagem competitiva em relação a outros microrganismos presentes no mesmo nicho. Dessa forma, o papel de sideróforos no biocontrole de fitopatógenos tem sido demonstrado, tanto por comparação dos efeitos da molécula purificada com íons quelantes sintéticos, como pelo uso de mutantes não produtores. Pyoverdine pode atuar como elicitador de resistência sistêmica induzida em algumas plantas. A quantidade de sideróforos produzida pode ser influenciada por diferentes fatores ambientais (Rosas, 2007). Assim, a produção de sideróforos por microrganismos não patogênicos pode ter dois benefícios para as plantas: solubilização de Fe não disponível, tornando-o pronto para ser absorvido pela planta, e supressão do crescimento dos patógenos por privá-los de fontes de Fe.

Historicamente, a simbiose entre plantas leguminosas (família Fabaceae) e bactérias diazotróficas tem atraído atenção por causa da importância dessas plantas na alimentação humana e animal. Sinais moleculares (oligossacarídeos) secretados por essas bactérias desempenham papel crítico nesse processo. *Rhizobium* é o mais predominante gênero desse grupo de bactérias que coloniza raízes das plantas, formando nódulos dentro dos quais mudam para uma forma não reprodutiva e começam a fixar o nitrogênio do ar (Aeron et al., 2011). A fixação de nitrogênio é realizada, não só pelas bactérias simbiontes, mas também por certas bactérias de vida livre. Por exemplo, *Azospirillum* spp. de vida livre são hábeis fixadoras de nitrogênio, captando esse elemento químico da atmosfera e disponibilizando-o para as plantas. Embora sejam habitantes do solo, estas podem se aproximar das raízes das plantas, por quimiotaxia (atração por exsudatos de carbono e fontes de energia), colonizando-as superficialmente. Estudos mais recentes demonstram que associação de outras culturas com a proliferação de bactérias na rizosfera também beneficiam cereais, como milho, arroz e aveia, entre outras. As bactérias fixadoras de nitrogênio são classificadas em três categorias: diazotróficas rizosféricas, diazotróficas endofíticas facultativas e diazotróficas endofíticas obrigatórias (Steenhoudt; Vanderleyden, 2000). A fixação de nitrogênio atmosférico é um sistema complexo, regulado por vários genes.

PROCESSOS ECOLÓGICOS DO CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS

O controle biológico de doenças de partes aéreas e o controle de doenças de raízes das plantas seguem basicamente o mesmo princípio. Entretanto, eventos ecológicos distintos operam nos dois ambientes, exigindo estratégias específicas para sobrevivência, reprodução e disseminação dos microrganismos nos dois ambientes.

Espermosfera versus rizosfera

A espermosfera define a região do solo ou meio influenciado pelas sementes.

Como as raízes das plantas, as sementes também secretam exsudatos, especialmente durante a germinação.

Basicamente as mesmas condições aplicam-se tanto à espermosfera quanto à rizosfera (Green, 2003).

As comunidades microbianas residentes nas zonas de influência das plantas, na grande maioria, não são danosas.

Os microrganismos biocontroladores residentes ou introduzidos podem colonizar tanto as partes externas como internas das plantas. Os epifíticos colonizam as partes externas das plantas, como a espermosfera (região em torno da semente germinada), rizosfera (região em torno das raízes influenciada pelos exsudados radiculares) e filosfera (região em torno da parte aérea das plantas – folha, caule e flor – influenciada pelos exsudados da planta). Os endofíticos colonizam tecidos internos, como

os vasos condutores, espaços intercelulares e as sementes. É importante pontuar que endofíticos e epifíticos são termos que se referem, para a maioria dos profissionais da área agrônômica, aos microrganismos que estão presentes nas plantas sem causar-lhes dano.

Interações microbianas na espermosfera

A espermosfera é a região em torno da semente em fase de germinação e do solo ao seu redor que está sob a influência de compostos depositados pela semente, principalmente aqueles que são fonte de carbono (Nelson, 2004). A germinação, e a consequente formação da espermosfera, tem início na embebição das sementes e finaliza quando visualmente observa-se a formação da radícula através das estruturas que envolvem o embrião (Bewley, 1997). Isso significa que esse período da existência da espermosfera é muito curto, dependendo da espécie vegetal.

O maior número de microrganismos presentes na espermosfera é de espécies de bactérias, seguidas por fungos (Kremer, 1987; Luz, 1998). Os trabalhos voltados para a identificação de bactérias em sementes demonstram que as mais comumente encontradas são pertencentes aos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas*. Esses microrga-

nismos presentes na espermosfera contribuem positivamente para o desenvolvimento da planta, auxiliando na sua nutrição e/ou promoção do crescimento (Truyens et al., 2015; Khalaf; Raizada, 2016). Porém, pouco ainda se sabe sobre o papel desses microrganismos residentes da espermosfera no controle de doenças de plantas. Ainda assim, a introdução de bactérias biocontroladoras de fitopatógenos nas sementes, com o objetivo de que se multipliquem na espermosfera e posteriormente colonizem a rizosfera e/ou outras partes da planta e atuem no controle de doenças de início de ciclo, é uma prática bastante comum. Entre as várias espécies, citam-se *B. pumilus*, *B. subtilis*, *Pseudomonas putida* e *Pseudomonas fluorescens*. Isoladas a partir de sementes de arroz, essas bactérias antagonizaram diversos fitopatógenos (Cottyn et al., 2001; Xie et al., 2001). Além dessas, várias espécies de fungos, a exemplo dos gêneros *Trichoderma*, *Chaetomium* e *Clonostachys*, são potenciais agentes de biocontrole de doenças comumente isolados de sementes das mais diversas plantas.

Interações microbianas na rizosfera

A rizosfera compreende o volume de solo em torno das raízes, influenciado química, física e biologicamente pelas raízes das plantas (Sorensen, 1997). Trata-se da região do solo mais rica em nutrientes e outros compostos liberados pelas plantas, por isso com grande atividade microbiana (Huang et al., 2014). A diversidade de microrganismos nas raízes das plantas varia na ordem de dezenas de milhares de espécies (Berendsen et al., 2012). Os microrganismos benéficos presentes na rizosfera podem ser de ocorrência natural, oriundos das sementes e/ou habitantes do próprio solo, ou introduzidos no intuito de aumentar os efeitos benéficos que possam gerar. Segundo Wallenstein et al. (2017), as plantas evoluíram com os microrganismos, favorecendo aqueles que lhes eram benéficos. A domesticação e o melhoramento genético das espécies cultivadas, com fertilização intensa, provocou uma dissociação no microbioma da rizosfera selecionado naturalmente pela planta. Se importantes interações foram perdidas, existe a oportunidade de se projetar e inserir características de microbiomas rizosféricos benéficos nos sistemas agrícolas.

Os efeitos benéficos que os microrganismos exercem são muitos, principalmente na nutrição e manutenção da sanidade das plantas. Essa última realiza-se por meio de diversos mecanismos de ação, conforme descritos em tópico específico do presente capítulo. O conjunto de atividades benéficas exercidas pelo microbioma pode levar ao fenômeno denominado solo supressivo (Cook; Baker, 1983), tratado em detalhes na seção Interações Microbianas nos Solos – solos supressivos, deste capítulo.

Muitos dos patógenos não especializados (que atacam várias espécies vegetais) são veiculados pelas sementes e usam seus exsudatos para crescimento

saprofítico antes de atacarem a raiz primária e as plantas jovens que não possuem, ainda, uma barreira efetiva contra a infecção, como deposição de lignina. Esses patógenos causam podridões de sementes e podridões de raízes, tombamentos de pré e pós-emergência, queima de plântulas, podridão do colo/caule, podridões gerais de raízes e murchas. *Rhizoctonia solani*, *Pythium* spp., *Phytophthora* spp., *Sclerotinia* spp., *Macrophomina phaseolina*, *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium* spp., *Verticillium* spp. e bactérias são os mais comuns. *Gaeumannomyces graminis*, patógeno causador de podridões em espécies da família Poaceae, é um exemplo de podridões especializadas de determinadas culturas.

Naturalmente, todos os solos têm a capacidade de suprimir a doença. Mas a atividade microbiana depende da umidade do solo, temperatura e taxa de carbono/nitrogênio. Condições que alteram a atividade biológica ou as relações entre organismos podem efetuar supressão. Os solos quentes e úmidos com taxas elevadas de carbono/nitrogênio terão níveis mais elevados de atividade microbiana e uma maior supressão. O grau de supressão também está relacionado com o equilíbrio entre organismos patogênicos e os organismos que se alimentam desses patógenos. Consequentemente, um solo que é capaz de suprimir níveis moderados de inóculo da doença pode não ser capaz de suprimir a doença num ano em que grandes quantidades de organismos eficazes em causar doença sobreviveram.

Interações microbianas em solos supressivos

A atividade microbiana pode prevenir o estabelecimento de fitopatógenos ou inibir suas atividades patogênicas. Essa é uma forma de controle biológico natural? Solos que apresentam esse fenômeno são denominados solos supressivos, e o oposto são solos conducivos. Apesar de alguns condicionarem o uso do termo supressividade de doença às situações em que existe um determinante biológico bem definido, existem fortes evidências do papel, também, de fatores abióticos nesse evento. Os atributos químicos e físicos do solo, entre eles pH, conteúdo de matéria orgânica, textura e condições de drenagem, operam na supressão de doenças de plantas na medida em que causam impactos na atividade dos microrganismos. Porém, a supressividade do solo é frequentemente direta ou indiretamente associada com atividades de microrganismos habitantes do solo ou com metabólitos microbianos.

A maioria dos solos apresenta algum grau de supressão aos patógenos. Essa característica bastante comum tem sido referida como supressão geral e opera contra a maioria, senão contra todos os patógenos, envolvendo a atividades de muitos organismos (biomassa microbiana) residentes do solo, em combinação com fatores abióticos. Esse tipo de supressão difere entre microrganismos e não pode ser

transferida de um solo para outro. Já a supressividade específica opera apenas contra tipos patogênicos específicos e pode ser transferida para outros solos, por adição de amostras de solo supressivos ao solo não supressivo (Chandrashekara et al., 2012).

Diferentes mecanismos de ação dos microrganismos agentes de controle biológico estão envolvidos na supressividade dos solos, tais como: inibição do crescimento por compostos microbianos que possuem ação contra o microrganismo patogênico; competição entre o agente de biocontrole e o patógeno por Fe (produção de sideróforos), sítios de infecção e por nutrientes; parasitismo direto, produção de enzimas extracelulares degradadoras de parede celular, entre as quais, quitinase e β -1,3 glucanase; e indução de resistência sistêmica (IRS). Esses mecanismos não são exclusivos nem excludentes, podendo agir conjuntamente; frequentemente, um mesmo agente de biocontrole exibe mais de um desses.

Supressividade específica tem sido demonstrada para diversos patógenos (Kariuki et al., 2015). Esses incluem: fungos (*Phythium splendens*, *Fusarium oxysporum*, *G. graminis* var. *tritici*, *Aphanomyces euteicers*, *Phytophthora cinnamomi*, *Phytophthora infestans*, *Thielaviopsis brassicola*, *Plasmodiophora brassicae* e *R. solani*), nematoides (*Heterodera schachtii*, *Heterodera avenae*, *Criconemella xehoplax* e *Meloidogyne* spp.) e bactérias (*Ralstonia solanacearum* e *Streptomyces scabies*). Embora a supressão geral seja um componente de solos supressivos a doenças (Cook; Baker, 1983), o entendimento e a potencial de exploração da supressão específica têm despertado maior interesse como estratégia de controle biológico.

Entre os patossistemas fúngicos, supressividade às murchas de fusário, causadas por *F. oxysporum*, e ao mal do pé do trigo, causado por *G. graminis* var. *tritici*, foram os assuntos mais extensivamente estudados em uma diversidade de regiões geográficas. Em ambos os casos, um patógeno específico causa significativamente menos doenças em solos supressivos do que em outros solos (conducivos). O efeito é perdido quando o solo é tratado com calor ou fungicida sintético, indicando o envolvimento de microrganismos.

Supressividade a *Fusarium*

As murchas vasculares de fusário são causadas por *forma specialis* de *F. oxysporum* e afetam diversas espécies de plantas. Entre várias bactérias, actinomicetos e fungos isolados de raízes de meloeiro, uma linhagem não patogênica de *F. oxysporum* recuperada de solos supressivos se mostrou capaz de controlar a doença causada por *F. oxysporum*. Outros exemplos de supressividade a *Fusarium*

são as linhagens não patogênicas *F. oxysporum* f. sp. *pisi* em ervilha na Califórnia e *F. oxysporum* f. sp. *cubense* em banana na América Central.

O papel de *Fusarium* spp. não patogênicos na supressão de doença foi inicialmente sugerido como resultado de observações da existência de grandes populações residentes desse fungo e que estes são elementos funcionais da microflora residente em solos supressivos à murcha de fusário de muitas regiões geográficas. Ademais, tem sido constatado que a supressividade em solos condúctivos pode ser restabelecida pela introdução de um isolado não patogênico. Vários mecanismos parecem envolvidos, entre os quais, a competição por substrato, a resistência sistêmica induzida na planta hospedeira e a competição parasítica por sítios de infecção. Além de *Fusarium* não patogênico, a comunidade de pseudomonas fluorescentes, particularmente *P. fluorescens* e *P. putida*, estaria também contribuindo para a supressão da doença e, possivelmente, outros componentes da microflora desses solos supressivos à murcha de fusário, atuando em conjunto (Chandrashekara et al., 2012).

Supressividade a *Gaeunmanomyces graminis* var. *tritici*

Solos supressivos ao mal do pé do trigo são um dos melhores e mais conhecidos exemplos de proteção de raízes de plantas por microrganismos antagonistas residentes do solo. O desenvolvimento da doença na forma grave é suprimido, mas esta não é eliminada. Pequenas ocorrências podem ser observadas, mesmo em campos fortemente supressores. Supõe-se que muitos microrganismos diferentes desempenham um papel na supressão. No entanto, estudos conduzidos no Estado de Washington e nos Países Baixos demonstraram que a supressividade se desenvolve por causa do acúmulo de cepas do complexo *P. fluorescens* no solo, durante o monocultivo sucessivo de trigo ou de cevada. Após um surto severo da doença, desenvolve-se o declínio cuja base é a acumulação de populações de *Pseudomonas* spp. produtoras de 2,4-diacetilfloroglucinol (2,4-DAPG) e acumulação do antibiótico na rizosfera. O agente causador da doença, *G. graminis* var. *tritici*, é altamente sensível a esse antibiótico. A supressividade é transferível e é eliminada por rotação de culturas de trigo com espécies não hospedeiras, e por pasteurização (60 °C, 30 min) ou fumigação do solo (Kwark; Weller, 2013).

Os estudos sobre as interações entre as raízes de trigo, o patógeno, os microrganismos produtores de 2,4-DAPG e o microbioma da rizosfera têm provido novos fundamentos em nível molecular sobre como os microrganismos indígenas “respondem” ao ataque às raízes da planta por patógenos de solo (Kwark; Weller, 2013).

Interações microbianas na filosfera

A filosfera compreende as regiões externas das plantas que estão acima do solo, incluindo as folhas, pecíolos, flores e frutos (Beattie, 2007). Nela vivem populações de organismos, denominados epifíticos (os residentes), que são capazes de influenciar as espécies patogênicas no processo de infecção de folhas e caules. É importante, entretanto, salientar que as partes internas dos vegetais também constituem habitats para inúmeros microrganismos, os denominados endofíticos, especialmente fungos e bactérias, que não serão tratados aqui.

Microrganismos não residentes atingem a superfície vegetal acidentalmente e, embora não possam crescer diretamente nos tecidos foliares, podem crescer saprofiticamente em materiais residuais. As bactérias que colonizam a filosfera são também chamadas de filobactérias. Fungos e bactérias presentes na superfície das plantas, assim como os introduzidos através de pulverização, podem controlar fitopatógenos. Com relação às fitobactérias, é bem conhecido o fato de que estas desenvolvem estratégias de adaptação para sobreviver e se multiplicarem na superfície das plantas, sendo capazes de resistir, em parte, aos efeitos adversos (Gnanamanickam; Immanuel, 2007). A despeito disso, muitos desses efeitos tendem a reduzir a taxa de penetração e colonização dos tecidos vegetais. Esse impacto negativo pode ser minimizado por meio de formulações adequadas, com adição de substâncias adjuvantes, que possuam, por exemplo, propriedades umectantes, protetores contra a radiação ultravioleta e suplementos de fontes de carbono de modo que certos microrganismos não adaptados possam superar essas adversidades e, assim, serem utilizados como agentes de controle biológico de patógenos de parte aérea.

As condições abióticas da filosfera são bastante diferentes do ambiente do solo, pois nele as mudanças microclimáticas são menos bruscas e as variações de umidade são menores. Além disso, o solo confere proteção contra a exposição à luz solar e à radiação ultravioleta.

Fatores morfológicos da superfície foliar, depósitos cristalinos, presença de pelos e cera cuticulares afetam a distribuição da água e o crescimento microbiano, o que pode levar a secamentos. Geralmente, os organismos patogênicos que tentam colonizar essas partes das plantas podem enfrentar várias dificuldades, além da competição com outros organismos não patogênicos. Os nutrientes, geralmente derivados de tecidos foliares, como resultado de extravazamentos celulares, grão de pólen, secreções de afídeos, aminoácidos, vitaminas, açúcares e substâncias reguladores de crescimento (fito-hormônios), alcaloides, fenóis, estão presentes em quantidades limitadas. Assim, a dinâmica microbiana no filoplano é refletida na distribuição não

uniforme das populações na mesma folha (agregação de populações) e na grande variação na população microbiana entre as folhas individualmente e entre as plantas. O tamanho da população microbiana no filoplano está na faixa de 10^4 a 10^7 unidades por centímetros quadrado de área foliar (Grenn, 2003).

Pelas causas citadas, no filoplano ocorre uma sucessão de microrganismos, em que as bactérias em geral tendem a ser mais abundantes no início da estação de desenvolvimento da planta, em razão da baixa disponibilidade de nutrientes, inteiramente dependente da liberação dos tecidos foliares. Destacam-se espécies de *Erwinia* não patogênicas, *Pseudomonas* não patogênicas, *Xanthomonas* não patogênicas, *Flavobacterium* (gram-negativas), *Bacillus* e *Lactobacillus* (gram-positivas) e, também, algumas espécies fitopatogênicas, dos gêneros *Pseudomonas*, *Bukoderia* e *Erwinia*. Com o aumento da competição por substrato, as populações de bactérias diminuem, cedendo lugar aos fungos leveduriformes (não filamentosos), dependentes dos açúcares presentes agora em maior quantidade. As principais famílias desses organismos são Sporidiobolaceae (gênero *Sporobolomyces*) e Tremellaceae (gênero *Cryptococcus*), que possuem fases sexuadas (teleomorfos) como fungos filamentosos, dentro do filo Basidiomycota. Já os fungos ditos filamentosos (multicelulares) podem permanecer no estado de dormência ou crescerem a partir de suas próprias reservas, tornando-se mais abundantes no período da senescência. Seus esporos podem ser colonizados por bactérias e por outros fungos, fitopatogênicos ou não. Dois exemplos são bastante comuns: *Hemileia vastatrix*, causador da ferrugem do cafeeiro, facilmente colonizado por *Lecanicillium lecanii* (Bettiol, 1991), um fungo filamentoso que, na sua fase assexuada (Hifomycetes), vem sendo comercializado para o controle de várias pragas em diversos países; o fungo *Microcyclus ulei*, causador do mal das folhas da seringueira, colonizado por *Dicyma pulvinata* (Syn. *Hansfordia pulvinata*). Esse também vem sendo estudado, para uso no controle do mal das folhas no Brasil (Mello et al., 2008).

O controle biológico natural no filoplano é exercido pelos microrganismos epifíticos, que atuam como um “tampão biológico”, competindo por nutrientes, a exemplo das leveduras *Sporobolomyces*, *Aureobasidium* e *Cryptococcus*, ou que produzem substâncias antibióticas, principalmente bactérias e fungos do gênero *Trichoderma*. Organismos exercendo parasitismo sobre fungos fitopatogênicos e, assim, atuando como biocontroladores no filoplano, são comuns nas ferrugens foliares, que podem ser colonizadas por *Alternaria alternata*, *Lecanicillium* (como no exemplo supracitado), *Tuberculina maxima*, *Sphaerollopsis* e *Scytalidium uredinicola*; *Ampelomyces quisqualis* parasitam fungos do grupo dos oídios; *Hansfordia pulvinata* parasita certos fungos foliares, como *Microcyclus ulei*, causador do mal das folhas da seringueira, mencionado anteriormente.

Trichoderma spp. é um gênero de fungos habitantes do solo que, apesar de ter poucos exemplos de ocorrência natural na superfície das plantas, seu uso tem sido bem sucedido em aplicações foliares. Indução de resistência da planta pelo *Trichoderma*, associada ao estímulo do sistema de defesa da planta hospedeira, pode ocorrer, tanto pela pré-infecção da planta por microrganismos saprofíticos, não patogênicos, como por metabólitos produzidos por esses microrganismos (Cook, 1982).

Interações microbianas nas hastes e nos caules lenhosos

Em hastes e troncos lenhosos, as doenças causadas pelos patógenos geralmente incluem sintomas de deterioração e cancrios, especialmente em árvores de floresta e pomar. Essas espécies, entretanto, são habitats mais especializados, e o biocotrole pode ser mais efetivo. Caules geralmente são cobertos por casca, rica em taninos e fenóis que conferem resistência a muitas espécies fitopatogênicas. As cascas são superfícies para crescimento e abrigo para muitos organismos, mas são poucos os que derivam dessa superfície seus nutrientes. O limitado número de microrganismos nesses nichos torna mais fácil a introdução de inóculo do agente de biocontrole, com pouca competição. Citam-se dois exemplos de controle biológico aplicado contra doenças em espécies arbóreas: o controle do cancro do castanheiro com hipovírus de *Chphonectria parasitica* (Pereira et al., 2015), descrito anteriormente, e o controle da infecção de pinus, causada pelo basidiomiceto *Heterobasidium annosum*, com aplicações de outro basidiomiceto, *Phelebiopsis gigantea*.

Interações microbianas em inflorescências e frutos e controle biológico

Flores são estruturas de curta duração, portanto não estão muito sujeitas a infecções por organismos patogênicos. Entretanto, essas infecções, quando ocorrem, prejudicam diretamente a produção nas culturas agrícolas. Além disso, esses órgãos são portas de entrada na planta para os patógenos, os quais podem ser veiculados pelo vento, por respingos de chuva e água de irrigação e por insetos. A partir desses sítios de entrada, patógenos podem passar para os frutos e sementes que se formarão.

A mera presença de um patógeno no hospedeiro não é suficiente para causar doença; fatores bióticos e abióticos devem ser favoráveis para que isso ocorra. Os frutos são ambientes ricos em umidade e nutrientes, suportando grande quantidade de microrganismos tanto saprófitas como parasitas. Mudanças no estado nutricional dos frutos, com o progresso do seu ciclo, causam alterações na sua composição química e pH, determinando os grupos de microrganismos que são prevalentes em cada fase.

A resistência natural às doenças decresce com a maturação (Janisiewicz, 1996), e o controle biológico pode ocorrer naturalmente ou por introdução de microrganismos antagonistas.

A diversidade de microrganismos abrigados em inflorescências, frutos e vegetais frescos inclui bactérias, fungos filamentosos e leveduras, epífitas ou endófitos. Esses organismos podem afetar a qualidade e o armazenamento da produção agrícola durante a pós-colheita. Entretanto, a maioria dos trabalhos sobre microrganismos associados a esses órgãos vegetais limita-se a um número relativamente pequeno de espécies facilmente cultivadas em meio de cultura; muito pouco é conhecido sobre a diversidade e a composição geral dessas comunidades microbianas. Também a variação dessas comunidades entre as diferentes partes vegetais é pouco estudada. Droby et al. (2016) fizeram uma revisão, constatando a existência de três padrões-chave relativos a essas comunidades: 1) diferentes espécies e cultivares de plantas podem abrigar diferentes grupos microbianos específicos; 2) condições de cultivo e armazenamento da colheita podem influenciar a composição e abundância de comunidades microbianas encontradas; e 3) microrganismos não patogênicos podem interagir com agentes patogênicos encontrados nas superfícies dos produtos colhidos. Porém, a compreensão da diversidade e funções das comunidades microbianas associadas a esses produtos agrícolas, bem como os fatores que influenciam sua composição nutricional após a colheita, durante o armazenamento e a comercialização, ainda são limitados.

A pesquisa sobre o controle biológico de doenças de pós-colheita tem-se concentrado principalmente na prospecção de microrganismos antagonistas, que são capazes de colonizar frutos feridos durante a colheita e o manuseio subsequente. Em regra, os esporos de fitopatógenos germinam muito rapidamente (dentro de 24 horas) e colonizam feridas ricas em açúcares e outros nutrientes. Portanto, é necessário interferir com a germinação de esporos e/ou crescimento de tubo germinativo em um período de tempo curto, a fim de prevenir infecções que irão depreciar o produto para consumo/comercialização.

Entre os agentes de biocontrole de doenças em flores e frutos, destacam-se as bactérias *B. pumilus* e *B. amyloliquefaciens* para controle da podridão-cinzenta (*B. cinerea*), podridão-negra (*Phyllosticta citricarpa*) e queda prematura dos frutos (*Colletotrichum spp.*), que afetam os *citrus*, e a podridão olho de boi (*Cryptosporiopsis perennans*), que afeta as maçãs na pós-colheita; e o fungo *C. rosea* (Morandi et al., 2003; Liu et al., 2017), em cultivos protegidos de rosas, tomate e morango, entre outras (Brasil, 2017).

Trabalhos realizados recentemente no Brasil demonstram o potencial de diferentes linhagens e espécies microbianas, a exemplo de *B. subtilis* (Klein et al., 2016)

e da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, no controle da doença em condições de campo e em flores destacadas, respectivamente (Lopes et al., 2015).

Agentes de controle biológico apresentam potencial para serem usados no controle de doenças em geral, mas particularmente no controle de doenças em frutos. Esse método de controle deve ser destacado como recurso para controle de doenças de pós-colheita, pelo fato de os frutos serem frequentemente consumidos in natura, sendo ainda mais necessário que estejam livres de produtos químicos nocivos à saúde do consumidor.

TIPOS DE FORMULAÇÕES E ESTRATÉGIAS DE USO

Um número relativamente grande de formulações líquidas, aquosas e oleosas, pós-molháveis e grânulos dispersíveis de produtos biofungicidas são encontrados no mercado, mundialmente, para aplicação diretamente no solo, em sulcos de plantio ou diretamente nas raízes. Recomenda-se também o tratamento de sementes, estacas e tubérculos com suspensões do agente microbiano, antes do plantio. Em folhas, hastes ou frutos colhidos, os antagonistas são geralmente aplicados com pulverizações convencionais.

O uso bem-sucedido do controle biológico de doenças de plantas requer conhecimento das interações microbianas no ambiente e a escolha de estratégias adequadas de integração do organismo nos diferentes agroecossistemas. O controle biológico deve fazer parte de um sistema de manejo, em que as práticas culturais promovam a saúde das plantas. Essas incluem: medidas de controle preventivo, as quais são compulsórias em quarentenas e, também, muito úteis para conter a dispersão de fitopatógenos; microbiolização de sementes e de substratos para produção de mudas; rotação de culturas e manejo de resíduos, de forma a limitar a disponibilidade do material hospedeiro para o patógeno; preparo adequado do solo para interromper o ciclo de vida de agentes fitopatogênicos, entre outras. A integração de métodos de controle biológico e químico pode ser uma abordagem interessante, se linhagens de agentes de biocontrole tolerantes a pesticidas forem previamente testados, definindo-se protocolos de uso combinado. Além disso, um coquetel de agentes de biocontrole deve ser mais efetivo na supressão de doenças que um único agente, pois, como complemento aos efeitos aditivos ou sinérgicos, o uso de mais de um agente ao mesmo tempo possibilita combinações de agentes com diferentes requerimentos ambientais em diferentes tempos ou fases do ciclo da cultura, concomitantemente ao início dos distintos micronichos (Berg, 2009).

DESAFIOS E PERSPECTIVAS

O controle biológico de doenças de plantas apresenta uma série de vantagens em comparação com o controle químico. A principal vantagem é a suposta segurança no uso dos produtos biológicos, tornando possível a produção de alimentos com menos impactos ambientais e de forma menos danosa à saúde dos agricultores e consumidores. Os fungicidas químicos, assim como outros agrotóxicos, podem representar riscos para a saúde humana e animal, e, quando da aplicação, para o trabalhador. Além disso, não é novidade o fato de que alguns pesticidas químicos contaminam o solo, os mananciais de água e impactam uma gama de microrganismos. Os produtos biológicos, aparentemente, não causam alterações na diversidade da microflora no solo e nas raízes e, dessa forma, estratégias de controle biológico de doenças de plantas são totalmente compatíveis com as práticas de agricultura sustentável, necessárias para a conservação dos recursos naturais. A intoxicação de agricultores por produtos químicos são um efeito colateral grave, mundialmente reconhecido e, no Brasil, um problema de saúde pública. Por essas razões, há uma percepção da necessidade de reduzir significativamente o uso dos químicos na produção agrícola, por parte da sociedade mundial. Entretanto, muito do interesse nos agentes de controle biológico decorre da necessidade de substitutos para os produtos químicos onde estes são banidos, a exemplo do brometo de metila, ou onde os químicos não são eficazes ou, ainda, onde os patógenos tenham desenvolvido resistência aos fungicidas químicos.

De fato, hoje existe uma forte demanda por alternativas de controle de doenças de plantas que sejam seguras e eficazes. No que diz respeito ao controle biológico, a estratégia que vem sendo disponibilizada para atender a essa demanda é o desenvolvimento comercial de biofungicidas. Porém, simplesmente colocar produtos biológicos no mercado com recomendações de uso como se fossem fungicidas químicos não resolve a questão, pois os agentes de biocontrole, sendo organismos vivos, possuem características biológicas e fisiológicas que não podem ser desconsideradas. Essas características são refletidas no seu maior tempo de ação, comparado aos químicos, e na sensibilidade a alterações ambientais, explicando, assim, as constantes falhas desses agentes em mostrar efeitos consistentes em condições ambientais variáveis.

A compreensão dessas limitações tem impulsionado as pesquisas no entendimento de como os microrganismos interagem entre si, com as plantas e com os componentes do solo. Especificamente, várias estratégias bioquímicas e moleculares vêm sendo aplicadas para identificar os principais genes e compostos envolvidos

nas interações tríplices planta-patógeno-antagonista e para o entendimento dos mecanismos de biocontrole em nível celular e molecular. Pode-se dizer que já existe um substancial acúmulo de conhecimento das bases genéticas e moleculares do controle biológico de doenças. Esses conhecimentos podem agora ser utilizados para o desenvolvimento de linhagens expressando vários mecanismos de ação, por exemplo, ou para criar plantas resistentes a doenças por transferência de genes. Entretanto, existem ainda lacunas quanto ao entendimento das condições requeridas para uma melhor tolerância dos agentes de biocontrole a mudanças ambientais. As formulações devem ser baseadas em estudos fisiológicos, de forma a combinar vida de prateleira, facilidade de manuseio e eficácia no campo. O uso consorciado de agentes de controle biológico com diferentes atributos para superação das múltiplas adversidades bióticas e abióticas do ambiente pode ser uma tática para estender o âmbito de ação desses agentes no tempo, espaço e número de patógenos-alvo. De mais a mais, o controle biológico de doenças deve ser pensado dentro do contexto de um programa de manejo de culturas, em que uma série de espécies, incluindo fitopatógenos e insetos-praga, deve ser combatida ao mesmo tempo, o que requer a integração de diferentes agentes de biocontrole com outras práticas de manejo, e até mesmo com produtos químicos. Essa integração exige estudos detalhados, planejamento e monitoramento constante, sendo, portanto, bem mais complexa do que o uso do controle químico tradicional.

REFERÊNCIAS

- AERON, A.; KUMAR, S.; PANDEY, P.; MAHESHWARI, D. K. Emerging role of plant growth promoting rhizobacteria in agrobiolgy. In: MAHESHWARI, D. K. (Ed.). **Bacteria in agrobiolgy: crop ecosystems**. Berlin: Springer, 2011. p. 1-36. DOI: 10.1007/978-3-642-18357-7_1.
- ALABOUVETTE, C.; OLIVAIN, C.; STEINBERG, C. Biological control of plant diseases: the European situation. **European Journal of Plant Pathology**, v. 114, n. 3, p. 329-341, Mar. 2006. DOI: 10.1007/s10658-005-0233-0.
- BAKER, K. F.; SNYDER, W. C. (Ed.). **Ecology of soil-borne plant pathogens: prelude to biological control**. Berkeley: University of California Press, 1965. 571 p.
- BARGABUS, R. L.; ZIDACK, N. K.; SHERWOOD, J. E.; JACOBSEN, B. J. Characterization of systemic resistance in sugar beet elicited by a non-pathogenic, phyllosphere colonizing *Bacillus mycoides*, biological control agent. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 61, n. 5, p. 289-298, Nov. 2002. DOI: 10.1006/pmpp.2003.0443.
- BEATTIE, G. A. Plant-associated bacteria: survey, molecular phylogeny, genomics and recent advances. In: GNANAMANICKAM, S. S. (Ed.). **Plant-associated bacteria**. Dordrecht: Springer, 2007. p. 1-56. DOI: 10.1007/1-4020-4538-7_1.
- BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A. M.; LIMÓN, M. C.; CODÓN, A. C. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**, v. 7, n. 4, p. 249-260, Dec. 2004.

BERENDSEN, R. L.; PIETERSE, C. M. J.; BAKKER, P. A. H. M. The rhizosphere microbiome and plant health. **Trends in Plant Science**, v. 17, n. 8, p. 478-486, Aug. 2012. DOI: 10.1016/j.tplants.2012.04.001.

BERG, G. Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 84, n. 1, p. 11-18, Aug. 2009. DOI: 10.1007/s00253-009-2092-7.

BETTIOL, W. (Org.). **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1991. 388 p. (EMBRAPA-CNPDA. Documentos, 15).

BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. 341 p.

BEWLEY, J. D. Seed germination and dormancy. **The Plant Cell**, v. 9, p. 1055-1066, July 1997. DOI: 10.1105/tpc.9.7.1055.

BIOCYCLOPEDIA. **Biological control of plant pathogens pests and weeds**. 2012. Disponível em: <http://biocyclopedia.com/index/biotech_biological_control_pest_weed.php#aa>. Acesso em: 22 set. 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Agrofit**. 2017. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 7 jul. 2017.

CHANDRASHEKARA, C.; BHATT, J. C.; KUMAR, R.; CHANDRASHEKARA, K. N. Suppressive soils in plant disease management. In: SINGH, V. K.; SINGH, Y.; SINGH, A. (Ed.). **Ecofriendly innovative approaches in plant disease management**. Dehradun, Uttarakhand: International Book Distributors, 2012. p. 21-256.

CHOUDHARY, D. K.; JOHRI, B. N. Interactions of *Bacillus* spp. and plants – with special reference to induced systemic resistance (ISR). **Microbiology Research**, v. 164, n. 5, p. 493-513, Sept. 2009. DOI: 10.1016/j.micres.2008.08.007.

CHOUDHARY, D. K.; PRAKASH, A.; JOHRI, B. N. Induced systemic resistance (ISR) in plants: mechanism of action. **Indian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 4, p. 289-297, Dec. 2007. DOI: 10.1007/s12088-007-0054-2.

COOK, R. J. Progress toward biological control of plant pathogens with special reference to take-all of wheat. **Agriculture Forest Bulletin**, v. 5, p. 22, 1982.

COOK, R. J.; BAKER, K. F. (Ed.). **The nature and practice of biological control of plant pathogen**. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1983. 539 p.

CORTES-PENAGOS, C.; OLMEDO-MONFIL, V.; HERRERA-ESTRELLA, A. The nature of fungal mycoparasitic biocontrol agents. In: CHINCHOLKAR, S. B.; MUKERJI, K. G. (Ed.). **Biological control of plant diseases**. New York: The Haworth Press, 2007. p. 327-353.

COTTYN, B.; REGALADO, E.; SWINGS, J.; MEW, T. W. Microorganisms associated with rice seed diversity of bacterial communities associated with rice seed in the tropical environment. In: MEW, T. W.; COTTYN, B. (Ed.). **Seed health and seed-associated microorganisms for rice disease management**. Los Baños: International Rice Research Institute, 2001. p. 3-8.

DI PIETRO, A.; GUT-RELLA, M.; PACHLATKO, J. P.; SCHWINN, F. J. Role of antibiotics produced by *Chaetomium globosum* in biocontrol of *Pythium ultimum*, a causal agent of damping-off. **Phytopathology**, v. 82, p. 131-135, 1992. DOI: 10.1094/Phyto-82-131.

DJONOVIĆ, S.; VARGAS, W. A.; KOLOMIETS, M. V.; HORNDESKI, M.; WIEST, A.; KENERLEY, C. M. A proteinaceous elicitor Sm1 from the beneficial fungus *Trichoderma virens* is required for induced systemic resistance in maize. **Plant Physiology**, v. 145, p. 875-889, Nov. 2007. DOI: 10.1104/pp.107.103689.

DROBY, S.; WISNIEWSKI, M.; TEIXIDÓ, N.; SPADARO, D.; JIJAKLI, M. H. The science, development, and commercialization of postharvest biocontrol products. **Postharvest Biology and Technology**, v. 122, p. 22-29, Dec. 2016. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2016.04.006.

EL-HASAN, A.; BUCHENAUER, H. Actions of 6-pentyl-alpha-pyrone in controlling seedling blight incited by *Fusarium moniliforme* and inducing defence responses in maize. **Journal of Phytopathology**, v. 157, n. 11-12, p. 697-707, 2009. DOI: 10.1111/j.1439-0434.2009.01565.x.

GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. **Scientifica**, article ID 96340, 2012. 15 p. Review article. DOI: 10.6064/2012/963401.

GNANAMANICKAM, S. S.; IMMANUEL, J. E. Epiphytic bacteria, their ecology and functions. In.: GNANAMANICHAM, S. S. (Ed.). **Plant-associated bacteria**. Dordrecht: Springer, 2007. p. 131-154. DOI: 10.1007/1-4020-4538-7_4.

GREEN, H. **Efficacy documentation for microbial plant protection products, with a focus on products to control soil and seed-born plant pathogens**. Denmark: Ministry of Environment, Danish Forest and Nature Agency, 2003.

HAGGAG, W. M.; MOHAMED, H. A.-L. A. Biotechnological aspects of microorganisms used in plant biological control. **American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture**, v. 1, n. 1, p. 7-12, 2007.

HARMAN, G. E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 190-194, Feb. 2006. DOI: 10.1094/PHYTO-96-0190.

HÉRAUX, F. M. G.; HALLETT, S. G.; RAGOTHAMA, K. G.; WELLER, S. C. Composted chicken manure as a medium for the production and delivery of *Trichoderma virens* for weed control. **Hort Science**, v. 40, n. 5, p. 1394-1397, Aug. 2005. DOI: 10.21273/HORTSCI.40.5.1394.

HEYDARI, A.; PESSARAKLI, M. A review on biological control of fungal plant pathogens using microbial antagonists. **Journal of Biological Sciences**, v. 10, n. 4, p. 273-279, 2010. DOI: 10.3923/jbs.2010.273.290.

HOWELL, C. R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. **Plant Disease**, v. 87, n. 1, p. 4-10, Jan. 2003. DOI: 10.1094/PDIS.2003.87.1.4.

HOWELL, C. R. Understanding the mechanisms employed by *Trichoderma virens* to effect biological control of cotton diseases. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 178-180, Feb. 2006. DOI: 10.1094/PHYTO-96-0178.

HOWELL, C. R.; STIPANOVIC, R. D. Suppression of *Pythium ultimum*-induced damping-off of cotton seedlings by *Pseudomonas fluorescens* and its antibiotics, Pyoluteorin. **Phytopathology**, v. 70, n. 80, p. 712-715, 1980. DOI: 10.1094/Phyto-70-712.

HUANG, X.-F.; CHAPARRO, J. M.; REARDON, K. F.; ZHANG, R.; SHEN, Q.; VIVANCO, J. M. Rhizosphere interactions: root exudates, microbes, and microbial communities. **Botany**, v. 92, n. 4, p. 267-275, 2014. DOI: 10.1139/cjb-2013-0225.

JANISIEWICZ, W. Ecological diversity, niche overlap, and coexistence of antagonistic used in developing mixture for biocontrol of post-harvest disease of apples. **Phytopathology**, v. 86, p. 473-479, 1996. DOI: 10.1094/Phyto-86-473.

KAEWCHAI, S.; SOYTONG, K.; HYDE, K. D. Micofungicides and fungal biofertilizers. **Fungal Diversity**, v. 38, p. 25-50, 2009.

KARIUKI, G. M.; MURIUKI, L. K.; KIBIRO, E. M. The impact of suppressive soils on plant pathogens and agricultural productivity. In: MEGHVANSI, M. K.; VARMA, A. (Ed.). **Organic amendments and soil suppressiveness in plant disease management**. Switzerland: Springer, 2015. p. 3-23. (Soil biology, 46).

- KHALAF, E. M.; RAIZADA, M. Taxonomic and functional diversity of cultured seed associated microbes of the cucurbit family. **BMC Microbiology**, v. 6, article number 131, 2016. DOI: 10.1186/s12866-016-0743-2.
- KLEIN, M. N.; SILVA, A. C. da; KUPPER, K. C. *Bacillus subtilis* based-formulation for the control of postbloom fruit drop of citrus. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 32, p. 1-11, 2016. DOI: 10.1007/s11274-016-2157-6.
- KLOEPPER J. W.; SCHROTH, M. N. Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON PLANT PATHOGENIC BACTERIA, 4., 1977, Tours. **Proceedings...** Tours: INRA, 1978. p. 879-882.
- KREMER, R. J. Identity and properties of bacteria inhabiting seeds of selected broadleaf weed species. **Microbial Ecology**, v. 14, n. 1, p. 29-37, July 1987. DOI: 10.1007/BF02011568.
- KROHN, K.; FRANKE, C.; JONES, P. G.; AUST, H.-J.; DRAEGER, S.; SCHULZ, B. Wirkstoffe aus Pilzen, I. Isolierung, synthese und biologische wirkung von coniothyriomycin sowie synthese und biotestung analoger offenkettiger imide. **Liebigs Annalen der Chemie**, v. 1992, n. 8, p.789-798, Aug. 1992. DOI: 10.1002/jlac.1992199201130.
- KUMAR, A.; PRAKASH, A.; JOHRI, B. N. *Bacillus* as PGPR in crop ecosystem. In: MAHESHWARI, D. K. (Ed). **Bacteria in agrobiology: crop ecosystems**. New York: Springer, 2011. p. 37-59. DOI: 10.1007/978-3-642-18357-7_2.
- KUMAR, M.; TOMAR, R. S.; LADE, H.; PAUL D. Methylo trophic bacteria in sustainable agriculture. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 32, p. 1-9, 2016. DOI: 10.1007/s11274-016-2074-8.
- KWARK, Y.-S.; WELLER, D. M. Take-all of wheat and natural disease suppression: a review. **The Plant Pathology Journal**, v. 29, n. 2, p. 125-135, 2013. DOI: 10.5423/PPJ.SI.07.2012.0112.
- LEE, B.; FARAG, M. A.; PARK, H. B.; KLOEPPER, J. W.; LEE, S. H.; RYU, C.-M. Induced resistance by a long-chain bacterial volatile: elicitation of plant systemic defense by a C13 volatile produced by *Paenibacillus polymyxa*. **Plos One**, v. 7, n. 11, e48744, Nov. 2012. DOI: 10.1371/journal.pone.0048744.
- LIU, J.; WANG, X.; PU, H.; LIU, S.; KAN, J.; JIN, C. Recent advances in endophytic exopolysaccharides: production, structural characterization, physiological role and biological activity. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 1113-1124, Feb. 2017. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.10.084.
- LOPES, M. R.; KLEIN, M. N.; FERRAZ, L. P.; SILVA, A. C. da; KUPPER, K. C. *Saccharomyces cerevisiae*: a novel and efficient biological control agent for *Colletotrichum acutatum* during pre-harvest. **Microbiological Research**, v. 175, p. 93-99, June 2015. DOI: 10.1016/j.micres.2015.04.003.
- LORITO, M.; WOO, S. L.; D'AMBROSIO, M.; HARMAN, G. E.; HAYES, C. K.; KUBICEK, C. P.; SCALA, F. Synergistic interaction between cell wall degrading enzymes and membrane affecting compounds. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, v. 9, n. 3, p. 206-213, 1996. DOI: 10.1094/MPMI-9-0206.
- LUZ, W. C. Ecologia da espemosfera. In: MELO, I. S. de; AZEVEDO, J. L. (Ed.). **Ecologia microbiana**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1998. p. 167-185.
- MADDULA, V. S. R. K.; PIERSON, E. A.; PIERSON, L. S. Altering the ratio of phenazines in *Pseudomonas chlororaphis* (aureofaciens) strain 30-84: effects on biofilm formation and pathogen inhibition. **Journal of Bacteriology**, v. 190, n. 8, p. 2759-2766, 2008. DOI: 10.1128/JB.01587-07.
- MARFORI, E. C.; KAJIYAMA, S. I.; FUKUSAKI, E.; KOBAYASHI, A. Phytotoxicity of the tetramic acid metabolite trichosetin. **Phytochemistry**, v. 62, n. 5, p. 715-772, Mar. 2003. DOI: 10.1016/S0031-9422(02)00629-5.
- MELLO, S. C. M.; ESTEVANATO, C. E.; BRAÚNA, L. M.; CAPDEVILLE, G. DE; QUEIROZ, P. R.; LIMA, L. H. Antagonistic process of *Dicyma pulvinata* against *Fusicladium macrosporum* on rubber tree. **Tropical Plant Pathogen**, v. 33, n. 1, p. 5-11, Jan./Feb. 2008. DOI: 10.1590/S1982-56762008000100002.

- MELO, I. S.; FAULL, J. L. Tombamento de plântulas e controle biológico de *Rhizoctonia solani* e *Pythium* spp. In: MELO, I. S. de; AZEVEDO J. L. de (Ed.). **Controle biológico**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. v. 2, p. 237-262.
- MEZIANE, H.; VAN DER SLUIS, I.; VAN LOON, L. C.; HÖFTE, M.; BAKKE R, P. A. H. M. Determinants of *Pseudomonas putida* WCS358 involved in inducing systemic resistance in plants. **Molecular Plant Pathology**, v. 6, n. 2, p. 177-185, Mar. 2005. DOI: 10.1111/j.1364-3703.2005.00276.x.
- MILLARD, W. A.; TAYLOR, C. B. Antagonism of micro-organisms as the controlling factor in the inhibition of scab by green-manuring. **Annals of Applied Biology**, v. 14, n. 2, p. 202-216, May 1927. DOI: 10.1111/j.1744-7348.1927.tb07076.x.
- MISAGHI, I. J. **Physiology and biochemistry of plant – pathogen interactions**. New Work: Plenum Press, 1982. 287 p. DOI: 10.1007/978-1-4684-1149-2.
- MONTALVÃO, S. C. L. **Potencial de *Trichoderma* spp. no biocontrole de doenças do tomateiro**. 2012. 105 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Brasília, Brasília, DF.
- MORANDI, M. A. B.; MAFFIA, L. A.; MIZUBUTI, E. S. G.; ALFENAS, A. C.; BARBOSA, J. G. Suppression of *Botrytis cinerea* sporulation by *Clonostachys rosea* on rose debris: a valuable component in Botrytis blight management in commercial greenhouses. **Biological Control**, v. 26, p. 311-317, 2003.
- MUKHERJEE, P. K.; HORWITZ, B. A.; KENERLEY, C. M. Secondary metabolism in *Trichoderma* – a genomic perspective. **Microbiology**, v. 158, n. 1, p. 35-45, 2012. DOI: 10.1099/mic.0.053629-0.
- NEGA, A. Review on concepts in biological control of plant pathogens. **Journal on Biology, Agriculture and Healthcare**, v. 4, n. 27, p. 33-54, 2014.
- NELSON, E. B. Microbial dynamics and interactions in the spermosphere. **Annual Review of Phytopathology**, v. 42, p. 271-309, Sept. 2004. DOI: 10.1146/annurev.phyto.42.121603.131041.
- ONGENA, M.; JACQUES, P. *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. **Trends in Microbiology**, v. 16, n. 3, p. 115-125, Mar. 2008. DOI: 10.1016/j.tim.2007.12.009.
- PAL, K. K.; GARDENER, B. M. Biological control of plant pathogens. **The Plant Health Instructor**, 2006. DOI: 10.1094/PHI-A-2006-1117-02.
- PARVEEN, S.; ABDUL, H. W.; BHAT, M. Y.; KOKA, J. A. Biological control of postharvest fungal rots of rosaceous fruits using microbial antagonists and plant extracts – a review. **Czech Mycolog**, v. 68, n. 1, p. 41-66, 2016. DOI: 10.33585/cmy.68102.
- PATIL, A. S.; PATIL, S. R.; PAIKRAO, H. M. *Trichoderma* secondary metabolites: their biochemistry and possible role in disease management. In: CHINCHOLKAR, S. B.; MUKERJI, K. G. (Ed.). **Biological control of plant diseases**. New work: The Haworth Press, 2016. p. 327-353.
- PEREIRA, E.; RIGLING, D.; PROSPERO, S.; GOUVEIA, E. Controle biológico do cancro do castanheiro. Detecção, identificação e caracterização do Hypovirus – CHV1. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 38, n. 2, p. 258-263, jun. 2015.
- PODILE, A. R.; KISHORE, G. K. Plant growth-promoting rhizobacteria. IN. GNANAMANICKAM, S. S. (Ed.). **Plant-associated bacteria**. Dordrecht: Springer, 2006. p. 195-230. DOI: 10.1007/1-4020-4538-7_6.
- RAMÍREZ GRANILLO, A.; CANALES, M. G. M.; ESPÍNDOLA, M. E. S.; MARTÍNEZ RIVERA, A.; LUCIO, V. M. B. de; RODRÍGUEZ TOVAR, A. V. Antibiosis interaction of *Staphylococcus aureus* on *Aspergillus Fumigatus* assessed *in vitro* by mixed biofilm formation. **BMC Microbiology**, v. 15, article number 33, 2015. DOI: 10.1186/s12866-015-0363-2.
- RAZA, W.; YANG, X.; WU, H.; WANG, Y.; XU, Y.; SHEN, Q. Isolation and characterization of fusaricidin-type compound-producing strain of *Paenibacillus polymyxa* SQR-21 active against *Fusarium oxysporum* f.sp.

- neviun*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 125, n. 3, p. 471-483, Nov. 2008. DOI: 10.1007/s10658-009-9496-1.
- REINO, J. L.; GUERRERO, R. F.; HERNÁNDEZ-GALAN, R.; COLLADO, I. G. Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. **Phytochemistry Reviews**, v. 7, n. 1, p. 89-123, Jan. 2008. DOI: 10.1007/s11101-006-9032-2.
- ROSAS, S. Role of Rhizobacteria in biological control of plant diseases. In: CHINCHOLKAR, S. B.; MUKERJI, K. G. (Ed.). **Biological control of plant diseases**. New York: The Haworth Press, 2007. p. 327-353.
- SANDHEEP, A. R.; ASOK, A. K.; JISHA, M. S. Combined inoculation of *Pseudomonas fluorescens* and *Trichoderma harzianum* for enhancing plant growth of vanilla (*Vanilla phanifolia*). **Pakistan Journal of Biological Science**, v.16, n. 12, p. 580-584, 2013. DOI: 10.3923/pjbs.2013.580.584.
- SANFORD, G. B.; BROADFOOT, W. C. Studies of the effect of other soil inhabiting micro-organisms on the virulence of *Ophiobolus graminis* Sacc. **Scientific Agriculture**, v. 11, n. 8, p. 512-528, 1931. DOI: 10.4141/sa-1931-0056.
- SANFORD, S. S. Some factors affecting the pathogenicity of *Actinomyces scabies*. **Phytopathology**, v. 16, p. 525, 1926.
- SANTOS, H. A. **Trichoderma spp. como promotores de crescimento de plantas e como antagonistas a Fusarium oxysporum**. 2008. 89 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Brasília, Brasília, DF.
- SARAVANAKUMAR, K.; FAN, L.; FU, K.; YU, C.; WANG, M.; XIA, H.; SUN, J.; LI, Y.; CHEN, J. Cellulase from *Trichoderma harzianum* interacts with roots and triggers induced systemic resistance to foliar disease in maize. **Scientific Reports**, v. 6, article number 35543, 2016. DOI: 10.1038/srep35543.
- SKOOG, F.; MOLEIRO, C. O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues culture *in vitro*. **Symposia of the Society for Experimental Biology**, v. 11, p. 118-130, 1957.
- SORENSEN, J. The rhizosphere as a habitat for soil microorganisms. In: ELSAS, J. D. van; TREVORS, J. T.; WELINGTON, E. M. H. (Ed.). **Modern soil microbiology**. New York: M. Dekker, 1997. p. 21-46. (Books in soils, plants and the environment, 56).
- STEENHOUDT, O.; VANDERLEYDEN, J. *Azospirillum*, a free-living nitro-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic biochemical and ecological aspects. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 24, n. 4, p. 484-506, Oct. 2000. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2000.tb00552.x.
- STEIN, T. *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions. **Molecular Microbiology**, v. 56, n. 4, p. 845-857, May 2005. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2005.04587.x.
- STERNER, O.; THINES E.; EILBERT, F.; ANKE, H. Glisoprenins C, D and E, new inhibitors of appressorium formation in *Magnaporthe grisea*, from cultures of *Gliocladium roseum*. **The Journal of Antibiotics**, v. 51, n. 2, p. 228-231, 1998. DOI: 10.7164/antibiotics.51.228.
- TIAN, H.; SHAFI, J.; JI, M.; YUHUI, B.; ZHIGUO, Y. Antimicrobial metabolites from *Streptomyces* sp. SN0280. **Journal of Natural Products**, v. 80, n. 4, p. 1015-1019, Mar. 2017. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.6b01016.
- TRUYENS, S.; WEYENS, N.; CUYPERS, A.; VANGRONSVELD, J. Bacterial seed endophytes: genera, vertical transmission and interaction with plants. **Environmental Microbiology Reports**, v. 1, n. 1, p. 40-50, Feb. 2015. DOI: 10.1111/1758-2229.12181.
- UPADHYAY, A.; SRIVASTAVA, S. Phenazine-1-carboxylic acid is a more important contributor to biocontrol *Fusarium oxysporum* than pyrrolnitrin in *Pseudomonas fluorescens* strain Psd. **Microbiological Research**, v. 20, n. 4, p. 323-335, May 2011. DOI: 10.1016/j.micres.2010.06.001.

- VINALE, F.; NIGRO, M.; SIVASITHAMPARAM, K.; FLEMATTI, G.; GHISALBERTI, E. L.; RUOCCO, M.; VARLESE, R.; MARRA, R.; LANZUISE, S.; EID, A.; WOO, S. L.; LORITO, M. Harzianic acid: a novel siderophore from *Trichoderma harzianum*. **FEMS Microbiology Letter**, v. 347, n. 2, p. 123-129, Oct. 2013. DOI: 10.1111/1574-6968.12231.
- VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; WOO, S. L.; NIGRO, M.; MARRA, R.; LOMBARDI, N.; PASCALE, A. A.; RUOCCO, M.; LANZUISE, S.; MANGANIELLO, G.; LORITO, M. 2014. *Trichoderma* secondary metabolites active on plants and fungal pathogens. **The Open Mycology Journal**, v. 8, p. 127-139, 2014. Supplement-1, M5. DOI: 10.2174/1874437001408010127.
- WALLENSTEIN, M. Managing and manipulating the rhizosphere microbiome for plant health: a systems approach. **Rhizosphere**, v. 3, part 2, p. 230-232, June 2017. DOI: 10.1016/j.rhisph.2017.04.004.
- WEINDLING, R. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. **Phytopathology**, v. 22, p. 837-845, 1932.
- WEINDLING, R. Various fungi recently found to be parasitic on *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**, v. 24, p. 1141, 1934.
- WEINDLING, R.; EMERSON, O. H. The isolation of toxic substance from the culture filtrate of a *Trichoderma*. **Phytopathology**, v. 26, p. 1069-1070, 1936.
- WU, L.; WU, H.; CHEN, L.; YU, X.; BORRIS, R.; GAO, X. Difficidin and bacilysin from *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 have antibacterial activity against *Xanthomonas oryzae* rice pathogens. **Scientific Reports**, v. 5, article number 12975, 2015. DOI: 10.1038/srep12975.
- XIE, G. L.; PAMPLONA, R. S.; COTTYN, B.; SWINGS, J.; MEW, T. W. Rice seed: source of bacteria antagonistic against rice pathogens. In: MEW, T. W.; COTTYN, B. (Ed.). **Seed health and seed associated microorganisms for rice disease management**. Los Baños: International Rice Research Institute, 2001. p. 9-18. (Limited proceedings, 6).
- XU-PING, S.; YUAN, X. F.; LIU, W. P.; XU, J. F.; YU, X. P. Cloning and functional analysis of *tri14* in *Trichoderma brevicompactum*. **American Journal of Biochemistry and Biotechnology**, v. 11, n. 3, p. 169-175, 2015. DOI: 10.3844/ajbbsp.2015.169.175.
- ZAMIOUDIS, C.; KORTELAND, J.; VAN PELT, J. A.; VAN HAMERSVELD, M.; DOMBROWSKI, N.; BAI, Y.; HANSON, J.; VAN VERK, M. C.; LING, H.-Q.; SHULZE-LEFERT, P.; PIETERSE, C. M. Rhizobacterial volatiles and photosynthesis-related signals coordinate *MYB72* expression in Arabidopsis roots during onset of induced systemic resistance and iron-deficiency responses. **The Plant Journal**, v. 84, n. 2, p. 309-322, Oct. 2015. DOI: 10.1111/tpj.12995.
- ZEILINGER, S.; GRUBER, S.; BANSAL, R.; MUKHERJEE, P. K. Secondary metabolism in *Trichoderma* – chemistry meets genomic. **Fungal Biology Reviews**, v. 30, n. 2, p. 74-90, June 2016. DOI: 10.1016/j.fbr.2016.05.001.
- ZERIOUH, H.; ROMERO, D.; GARCÍA-GUTIÉRREZ, L.; CAZORLA, F. M.; VICENTE, A. de; PÉREZ-GARCÍA, A. The iturin-like lipopeptides are essential components in the biological control arsenal of *Bacillus subtilis* against bacterial diseases of cucurbits. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 24, p. 1540-1552, 2011. DOI: 10.1094/MPMI-06-11-0162.

CAPÍTULO 11

Controle de plantas invasoras

Glauca de Figueiredo Nachtigal

Eduardo Guatimosim

Marcelo Diniz Vitorino

Sueli Corrêa Marques de Mello

Davi Mesquita de Macedo

Robert Weingart Barreto

A interferência de espécies invasoras na eficiência agrícola é reconhecida desde os primórdios da agricultura. A despeito dos conhecimentos tecnológicos hoje disponíveis e do imensurável esforço humano para adequar os programas de manejo das culturas, as perdas de produção relacionadas à presença desse tipo de vegetação nas lavouras e pastagens são ainda expressivas. Perdas diretas podem ser verificadas tanto pela redução da produtividade, em razão da competição por nutrientes e espaço ou da alelopatia, como pela elevação dos custos de produção e beneficiamento. Custos adicionais podem, ainda, ser imprescindíveis na manutenção dos sistemas de irrigação, por causa dos danos nos canais e tubulações. Na pecuária, a presença dessas espécies causa prejuízos às pastagens, provoca a morte de animais pelo envenenamento e, em muitos casos, reduz a qualidade da lã. Espécies invasoras podem, ainda, atuar como hospedeiras alternativas para pragas e doenças; reduzir o valor monetário de áreas infestadas; comprometer o fornecimento de água e a navegação em rios e lagos; dificultar a visibilidade em estradas e causar problemas em redes elétricas e telefônicas, parques e jardins, quadras de esportes e calçadas.

As operações agrícolas concentradas em curto espaço de tempo, especialmente em áreas de cultivo intensivo ou em grandes áreas de monocultivo, demandam o uso de medidas drásticas de controle das plantas invasoras pela mobilização frequente do solo e utilização de produtos químicos com propriedades herbicidas. Essas medidas têm causado efeitos adversos ao ambiente, como o acúmulo de

produtos persistentes em mananciais hídricos, e, ainda, favorecido o desenvolvimento de resistência em espécies de difícil controle. Nesse contexto, o controle biológico oferece grandes chances de solucionar esses problemas, como complemento dos métodos convencionais de controle.

As expressões *plantas invasoras*, *daninhas*, *espontâneas* e *invasivas* são rotineiramente encontradas na literatura pertinente ao assunto. Neste capítulo, será usada a expressão planta invasora (ou invasiva) de forma genérica, a fim de representar a espécie de planta que pode se tornar dominante, a despeito se é nativa ou exótica, em um determinado ecossistema. Ressalva-se, porém, que a distinção entre espécies exóticas e nativas é importante para a definição de estratégias adequadas de controle, assunto que será tratado no corpo deste capítulo.

Vale ressaltar que nenhuma planta causa efeito negativo pela sua simples existência. Entretanto, qualquer espécie vegetal pode ser considerada daninha pelos seus efeitos negativos na atividade humana em determinado local e em determinado momento. Por exemplo, a mesma espécie considerada daninha em um local pode ser benéfica em outro por impedir erosão, possuir valor como melífera, ter propriedades medicinais, entre outras características benéficas importantes para o ecossistema em que se encontra. Por outro lado, a própria planta cultivada pode se tornar planta daninha em uma sucessão de culturas, onde sementes remanescentes de um cultivo originem várias plantas, recolonizando a área no cultivo subsequente.

A proteção da biodiversidade consiste em peça fundamental no desenvolvimento de uma agricultura sustentável e, sob esse enfoque, o controle biológico de plantas invasoras, assunto deste capítulo, pode ser aplicado em sistemas de produção de base ecológica e com distúrbios físicos mínimos, possibilitando integrar patógenos potenciais com táticas complementares para o manejo de plantas invasoras em âmbito local. Também para pastagens e áreas de conservação, o controle biológico pode ser um importante recurso para conter espécies invasoras sem o uso de herbicidas químicos.

BREVE HISTÓRICO

O uso de métodos biológicos para controle de plantas invasoras é mundialmente conhecido desde a metade do século 19, cujas primeiras experiências foram com artrópodes (Mello; Ribeiro, 1998). Na América Latina, a introdução pioneira do inseto *Chrysolina hyperici* Foster para o manejo de *Hypericum perforatum* (Hypericaceae) ocorreu em 1953, no Chile, após prospecções realizadas na Califórnia. No início

da década de 1990, mais de 20 países possuíam programas de controle biológico para 86 diferentes espécies de plantas invasoras (Harley; Forno, 1992). Destacam-se o manejo de *Lantana camara* L. (Verbenaceae) no Havaí, pelo uso de numerosas espécies de insetos prospectadas no México, a partir de 1902 (Waterhouse; Norris, 1987), e o programa de manejo de *Opuntia stricta* Haw. (Cactaceae) na Austrália, pela introdução de *Cactoblastis cactorum* Berg. (Lepidoptera), prospectado na Argentina. Este logrou pleno sucesso em 1993, com o controle da planta em mais de 20 milhões de hectares (McFadyen; Willson, 1997). Desde então, diversos insetos foram introduzidos como inimigos naturais de plantas invasoras em diferentes regiões do mundo (Julien; Griffiths, 1998).

Embora o reconhecimento de fitopatógenos como importantes agentes microbiológicos de controle de plantas invasoras seja antigo, o interesse por esses agentes, especialmente fungos, despertou-se a partir de 1971, com a liberação de *Puccinia chondrillina* Bubak and Syd. para controle de *Chondrilla juncea* L., importante invasora de cultivos de trigo e de pastagens na Austrália (Cullen et al., 1973). Já em 1973, no Chile, realizou-se a primeira introdução do fungo *Phragmidium violaceum* (Schultz) G. Winter, prospectado na Alemanha, para o manejo de *Rubus* sp. (Rosaceae). Diversos autores publicaram revisões completas sobre esse tema desde então (Hasan, 1974, 1980; Huffaker, 1976; Templeton, 1982; Wapshere, 1982; Te Beest, 1984; Templeton; Greaves, 1984; Evans, 1987; Adams, 1988; Ayres; Paul, 1990; Evans; Ellison, 1990; Charudattan, 1991; Watson, 1991; Te Beest et al., 1992; Julien; White, 1997; Evans et al., 2001; Ghosheh, 2005; Hallett, 2005; Barreto, 2009).

O primeiro catálogo mundial de controle biológico de plantas, publicado em 1982, apresentava 499 liberações de agentes de controle entre o final do século 19 e o ano de 1980. Na segunda edição, publicada em 1987, acrescentaram-se 100 novas liberações ocorridas até o final do ano de 1985. A terceira edição, publicada em 1992, trouxe mais 130 liberações de agentes de controle contra plantas invasoras até 1990. Na sua quarta edição, publicada em 1998, foram incluídas outras 220 novas liberações realizadas durante o período de seis anos, desde a terceira edição. A quinta e última edição, publicada em 2014, acrescentou mais 319 liberações realizadas no período de 16 anos desde a quarta edição. Esses catálogos mostram um total de 551 organismos utilizados no controle biológico de 224 plantas causadoras de invasão biológica em 130 países (Winston et al., 2014). Portanto, informações mais completas sobre agentes de biocontrole e suas espécies-alvo, em âmbito internacional, podem ser encontradas na 5ª edição desse catálogo (Winston et al., 2014), publicado pelo *The Forest Health Technology Enterprise Team* (FHTET)¹.

¹ Disponível em: <www.ibiocontrol.org/catalog/>.

Na América do Sul, notadamente no Brasil, encerram-se áreas de origem de várias plantas causadoras de invasão biológica pelo mundo, entre as quais: o aguapé [*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms (Pontederiaceae)], a lantana [*L. camara* L. (Verbenaceae)], o alface-d'água [*Pistia stratiotes* L. (Araceae)], a salvinia [*Salvinia molesta* D.S. Mitchell (Salviniaceae)], o ora-pro-nóbis [*Pereskia aculeata* Mill. (Cactaceae)], a aroeira [*Schinus terebinthifolia* Raddi (Anacardiaceae)], o araçazeiro [*Psidium cattleianum* Sabine (Myrtaceae)], o joá-bravo [*Solanum viarum* Dunal (Solanaceae)], o fumo-bravo [*Solanum mauritianum* Scopoli (Solanaceae)], a miconia [*Miconia calvescens* DC (Melastomataceae)], a tradescância [*Tradescantia fluminensis* Vell. (Commelinaceae)], a buva [*Conyza bonariensis* L. (Asteraceae)], entre outras.

Também no Brasil existem pesquisas e recomendações sobre o uso de fitopatógenos para o manejo de plantas invasoras, tanto em ecossistemas naturais quanto cultivados, entre as quais: o ipê-de-jardim [*Tecoma stans* (L.) Kunth (Bignoniaceae)] (Vitorino et al., 2004); a unha-do-cão [*Cryptostegia madagascariensis* Bojer ex Decne (Periplocoideae, Apocynaceae)] (Barreto, 2008); e o lírio-do-brejo ou gengibre-branco [*Hedychium coronarium* J. Koenig (Zingiberaceae)] (Soares; Barreto, 2008). Essas espécies foram introduzidas no País como plantas ornamentais e, em razão das condições favoráveis para desenvolvimento aqui encontradas, tornaram-se muito abundantes, modificando negativamente as paisagens. As pesquisas com invasoras de áreas cultivadas no País foram iniciadas na década de 1980 por Yorinori (1985), visando ao controle do leiteiro [*Euphorbia heterophylla* L. (Euphorbiaceae)]. Posteriormente, os fungos *Alternaria cassiae* Jaurair & Khan e *Cercospora caricis* Dearn. & House foram selecionados para uso contra o fedegoso [*Senna obtusifolia* (L.) Irwin & Barneby (Fabaceae)] e a tiririca [*Cyperus rotundus* L. (Cyperaceae)], respectivamente (Ribeiro et al., 1997; Mello, 1998). A partir desses trabalhos, muitos outros foram desenvolvidos no País, fato que pode ser comprovado facilmente, consultando sites especializados na internet. Esses estudos, contudo, não chegaram à fase de desenvolvimento de bio-herbicidas.

PRINCIPAIS ESTRATÉGIAS DE CONTROLE BIOLÓGICO DE PLANTAS INVASORAS

As estratégias de uso de agentes de controle biológico foram brevemente descritas no Capítulo 1, deste livro. Há características de abordagem, porém, que só se aplicam ao controle biológico de invasoras, tendo em vista que o agente atua no segundo nível trófico, isto é, são herbívoros ou fitopatógenos que obtêm energia

diretamente da planta. Dessa forma, as estratégias são apresentadas aqui com foco específico no controle biológico de plantas invasoras.

Basicamente, são duas as modalidades de controle biológico de plantas invasoras, comumente empregadas: a estratégia clássica, ou de importação, e a estratégia inundativa. A primeira consiste na importação e liberação de agentes de biocontrole da região de origem da planta-alvo. Uma vez aplicado, o organismo deve ser capaz de se estabelecer e se autoperpetuar na nova área, sem nenhuma manipulação após a liberação inicial. Já a estratégia inundativa é baseada no aumento da eficiência do organismo candidato por meio da sua multiplicação massal em meios artificiais e aplicações periódicas, a fim de gerar um nível de dano suficientemente alto para eliminar ou reduzir a população da espécie invasora. Esta, por enfatizar a manipulação do organismo, utiliza agentes fitopatogênicos, na maioria das vezes, fungos. O agente inundativo deve ser multiplicado em larga escala e formulado de forma padronizada, empacotado e registrado, gerando um produto para comercialização, que é fundamentada na periodicidade de aplicação, à semelhança dos herbicidas convencionais.

Uma terceira modalidade, menos utilizada, denominada aumentativa, requer aplicações recorrentes do agente de biocontrole para restabelecimento da população do organismo (Mello; Ribeiro, 1998). A estratégia aumentativa é menos usada e se assemelha à estratégia inundativa no que se refere à intervenção humana na distribuição do inóculo. Nesse caso, porém, o inóculo é produzido no seu hospedeiro original e as aplicações ocorrem com menor intensidade e frequência em relação à modalidade inundativa (Charudattan, 1991).

Controle biológico clássico

O controle biológico clássico geralmente é baseado na introdução de um agente de controle associado à determinada planta-alvo, a partir de seu centro de origem, para a área onde a planta tornou-se invasora. Em regra, a abordagem clássica é utilizada em programas de manejo de plantas invasoras exóticas, utilizando agentes de biocontrole que também são exóticos. Após a introdução, seguida de um determinado número de ciclos de efetivo estabelecimento, espera-se que o agente de controle aumente em densidade – em razão do ataque/infecção à planta-alvo. Ao longo do tempo, a ação do agente acaba por reduzir, gradativamente, a população da planta – até o ponto em que um equilíbrio ecológico dinâmico entre a população da planta e a do agente de controle é atingido.

O desenvolvimento de um programa de controle biológico clássico, seja com insetos ou com fitopatógenos, deve obedecer as seguintes etapas (Harris, 1973; Hasan, 1980; Evans et al., 2001):

- Determinar a planta-alvo: envolve a identificação correta da espécie invasora e coleta de dados na literatura sobre sua distribuição geográfica, identificando o centro de origem, biologia, ecologia e interações com a flora e fauna nativas, bem como características das áreas colonizadas.
- Realizar levantamento e identificação de inimigos naturais no centro de origem da planta-alvo. Vínculos de cooperação com pesquisadores e instituições nos países onde esses organismos serão coletados, bem como o cumprimento das leis dos países envolvidos quanto à coleta, importação e exportação dos organismos, são condições primordiais para viabilizar o programa de controle biológico (Barreto, 2009).
- Selecionar os inimigos naturais mais efetivos, com base nas informações obtidas no centro de origem. Essa etapa deve ser realizada após verificação de que parte dos inimigos naturais da planta-alvo não a tenha acompanhado no momento de sua introdução.
- Estudar a segurança, com base em testes de especificidade à planta-alvo, determinando a segurança de introdução na nova área, etapa esta que pode ser feita no centro de origem ou em quarentena especializada.
- Introduzir e estabelecer, mediante liberações programadas (mais de uma, se necessário), os organismos selecionados.
- Monitoramento para avaliar os resultados obtidos com a liberação do organismo na população da planta-alvo e seus efeitos na flora e fauna nativa.

Barreto (2009) inclui, ainda, os itens a seguir:

- Obtenção de financiamentos para o programa, lembrando que o controle biológico clássico é caracteristicamente financiado pelo setor público, não gerando produto para comercialização, nem lucro mensurável em moedas correntes; ademais esses programas são demorados e não oferecem garantia de sucesso. Quando bem sucedidos, resultam em grandes benefícios econômicos, para a sociedade como um todo, e para o meio ambiente.
- Estudo da ecologia da planta daninha e seus inimigos naturais no centro de origem e na região onde estão ocorrendo as infestações, assunto que será desenvolvido em seguida.

- Obtenção de aprovação das autoridades competentes, para exportação (no país de origem) e importação, bem como liberação (no país de introdução), seguindo a legislação própria de cada país. Esse assunto é discutido no capítulo 14 deste livro.

A busca por esses potenciais agentes deve ser realizada em áreas de origem da planta, o que pode ser uma região geográfica bastante grande. Além disso, essa busca deverá ocorrer preferencialmente em diferentes épocas do ano, cobrindo as diferenças sazonais da região. Portanto, o levantamento de inimigos naturais nas áreas de origem constitui uma das primeiras etapas do desenvolvimento.

Para a seleção e posterior liberação do agente, deve-se cumprir uma série de pré-requisitos e etapas, bem como restringir a especificidade e a eficiência do candidato. Extensivos testes devem ser realizados, nas regiões de origem do organismo a ser introduzido ou dentro de quarentenas especializadas, para garantir a segurança de que ele não irá causar danos a plantas benéficas no país onde será introduzido ou em países vizinhos (Watson, 1991). Em alguns casos, a eficiência do agente já é conhecida no ambiente de origem da espécie-alvo.

Os estudos para a determinação da especificidade de um potencial agente de controle podem demandar muito tempo e esforços, além de, por vezes, serem realizados em condições difíceis de trabalho na área de origem da planta-alvo. Baseando-se nesses problemas, Harris (1973) propôs uma metodologia para a avaliação de agentes para o controle biológico de plantas, antes mesmo da realização de testes de especificidade. Entretanto, esse sistema, como qualquer outra forma de avaliação simplificada, apresenta alguns problemas, principalmente quanto à simplicidade e generalização. Buscando uma alternativa ao trabalho de Harris, Goeden (1982) apresentou uma nova metodologia, mais detalhada e dividida em três fases sequenciais descritas na ficha a seguir, que leva em consideração informações também obtidas em testes de especificidade. No sistema de pontuação usado para avaliação, totais gerais abaixo de 20 pontos determinam que o agente em estudo possivelmente seja ineficiente como agente de controle biológico de plantas. Totais gerais de 20 a 50 pontos indicam que o organismo estudado deverá ser parcialmente efetivo como agente de controle, necessitando de complementação pela importação de outros agentes ou manejo integrado com outras estratégias. E totais gerais acima de 50 pontos indicam que o organismo estudado possivelmente será introduzido com êxito, conseguindo se estabelecer e regular a população da planta-alvo.

A metodologia proposta por Goeden foi usada por Vitorino et al. (2000) na avaliação de um agente selecionado para o controle da aroeira [*Schinus terebinthifolia* (Anacardiaceae)], planta invasora no estado americano da Flórida. Estudos realizados

Ficha de avaliação de agentes de controle biológico e resultado de estudo usando a vespa-serra-da-roeira para controle da aroeira, planta invasora no estado americano da Flórida

Fase I – Avaliação inicial da capacidade de dano do agente na área nativa

1) Danos diretos sob condições de campo

- (A) Minador de folhas 1 ()
 (B) Sugador ou galhador 2 ()
 (C) Desfolhador ou sugador com injeção de toxinas 4 (X)
 (D) Destruidor do tecido de suporte vascular ou mecânico – endófago 6 ()
 (E) Efetivo destruidor de sementes
 Planta perene 1 ()
 Planta não dependente de reprodução por sementes 2 ()
 Planta anual ou bianual com reprodução somente por sementes 6 ()

2) Danos indiretos

- (A) Nenhum 0 (X)
 (B) Limitado 2 ()
 (C) Planta hospedeira torna-se suscetível ao ataque de insetos ou fitopatógenos secundários 4 ()
 (D) Vetor de fitopatógeno virulento 6 ()

3) Fenologia do ataque

- (A) Período de ataque limitado não aumentando a susceptibilidade da planta a seca, geada ou competição 1 ()
 (B) Período de ataque limitado por insetos que danificam sementes não cobrindo todo o período reprodutivo da planta indesejável 2 ()
 (C) Período de ataque limitado, aumentando a susceptibilidade da planta hospedeira a seca, geada ou competição 4 (X)
 (D) Ataque prolongado por insetos que danificam sementes cobrindo toda a estação de crescimento ou período reprodutivo de uma planta indesejável anual 6 ()

4) Números de gerações

- (A) Espécies univoltinas obrigatórias 0 ()
 (B) Duas a três gerações por ano (dependência climática) 2 (X)
 (C) Quatro ou mais gerações por ano (dependência climática) 3 ()

5) Número de progênes por geração por fêmea

- (A) Menor que 500 0 (X)
 (B) de 500 a 1.000 2 ()
 (C) Maior que 1.000 3 ()

6) Fatores de mortalidade extrínsecos

- (A) Controle natural altamente afetado por inimigos naturais não específicos ou fatores ecológicos abióticos 0 (X)
 (B) Sujeito à extensiva mortalidade devido a competidores na planta hospedeira, combinado com ocorrência comum 3 ()
 (C) Sujeito à extensiva mortalidade por inimigos especializados incluindo doenças, e relativamente imune a inimigos não específicos 6 ()

7) Comportamento alimentar

- (A) Solitários 0 ()
 (B) Gregários 3 (X)

8) Distribuição

- (A) Somente local 0 ()
 (B) Cobrir cerca de metade da extensão da população da planta hospedeira 2 (X)
 (C) Cobrir cerca de três quartos da extensão da população da planta hospedeira 4 ()
 (D) Cobrir toda a extensão da planta hospedeira 6 ()

Total obtido pelo agente na fase I 15 pontos

Fase II – Adequação como agente de controle biológico**1) Plantas hospedeiras onde foi coletado o inseto**

- (A) Obtido de de plantas hospedeiras de diferentes gêneros (oligófago) 2 ()
- (B) Obtido de uma planta hospedeira do mesmo gênero que a planta invasora-alvo, mas não da mesma espécie 4 ()
- (C) Obtido da planta invasora-alvo 6 (X)

2) Facilidade de criação

- (A) Criação inviável, coleta de campo muito complicada 0 ()
- (B) Criação difícil na planta-alvo ou só possível em estágios restritos de desenvolvimento, em plantas hospedeiras vivas 2 ()
- (C) Fácil criação em dieta artificial ou em plantas hospedeiras, incluindo a planta-alvo 4 (X)

3) Segurança potencial

- (A) Relatado atacando plantas úteis 0 ()
- (B) Não conhecido como praga, porém possuem espécies congêneres que são pragas 2 ()
- (C) Não relatado como praga, sem espécies do mesmo gênero ou táxon mais elevado consideradas pragas 6 (X)

4) Especificidade de hospedeiro

- (A) Polífago – alimenta-se facilmente em testes sob condições de laboratório -6 ()
- (B) Monófago ou oligófago – não se alimenta em testes sob condições de laboratório 6 (X)

Total obtido pelo agente na fase II 22 pontos

Fase III – Eficácia potencial na área de introdução**1) Evidência de eficácia como agente de controle**

- (A) Fracasso como agente de controle biológico em uma ou mais regiões do mundo -6 ()
- (B) Primeiro uso como agente de controle biológico 0 (X)
- (C) Controle do hospedeiro na área nativa ou em uma região de introdução 6 ()
- (D) Sucesso em duas ou mais regiões do mundo 12 ()

2) Similaridade ecolimática

- (A) Ecoclima da área de introdução mais severo do que toda a área nativa de distribuição do agente -10 ()
- (B) Ecoclima da área nativa parcialmente similar ao da área de introdução 3 (X)
- (C) Ecoclima da área de introdução similar ao da área nativa do agente 6 ()

3) História da colonização do agente

- (A) Estabelecimento acidental na planta-alvo na área de introdução determinado por levantamentos faunísticos feitos pré-introdução -12 ()
- (B) Ausência na planta-alvo na área de introdução 0 (X)

Total obtido pelo agente na fase III 3 pontos

Total geral obtido para as três fases do sistema 40 pontos

por Medal et al. (1999), Vitorino et al. (2000), Vitorino (2001) e Hight et al. (2003) sobre a biologia, o comportamento e os testes de especificidade com a vespa-serra-da-aroeira [*Heteroperreyia hubrichi* Malaise, 1955 (Hymenoptera: Pergidae)], agente de controle biológico selecionado no Sul do Brasil, subsidiaram o preenchimento da ficha de avaliação proposta por Goeden. Os resultados indicam a possibilidade de uso da vespa-serra-da-aroeira como agente de controle da aroeira, mas demonstram também a necessidade da associação com outros agentes ou outras técnicas de controle.

Nota-se preocupação do sistema de avaliação com a quantificação da eficiência que o agente apresenta na sua área de origem, com sua especificidade e, finalmente, com as características ambientais da área de origem e da(s) área(s) de introdução. Toda essa preocupação está pautada em informações previamente disponíveis na literatura, ou seja, não é possível a aplicação do sistema de avaliação para agentes dos quais ainda não se conhecem a biologia e a especificidade, bem como as características ambientais das áreas envolvidas. Dessa forma, estudos básicos com qualquer agente que demonstre potencial precisam ser conduzidos antes de qualquer conclusão. Isso nos remete a uma pergunta: quais agentes devem ser selecionados para estudo antes de avaliá-los?

A seleção de um agente pode ser feita baseada em muitos fatores, mas algumas características são sempre priorizadas no início de um trabalho de seleção de potenciais agentes. Entre estas, citam-se: tipo de dano à planta-alvo, intensidade do dano e partes da planta afetadas. Danos em órgãos reprodutivos causam diminuição da capacidade reprodutiva e, conseqüentemente, menor dispersão da espécie invasora, ao passo que danos em seus tecidos essenciais podem causar diminuição do vigor (caso de sementes ou plântulas), redução da capacidade fotossintética, ou da capacidade de absorção de nutrientes. Uma ampla distribuição do agente de biocontrole na área de origem geográfica pode ser também uma característica importante, refletindo em maior facilidade de adaptação na área de introdução, ou melhor, demonstrando certa flexibilidade e potencial para sobrevivência em uma faixa mais ampla de variações climáticas.

A baixa incidência de inimigos naturais ou a presença de inimigos naturais específicos é outra característica interessante a ser observada na área de origem. O conhecimento dos inimigos naturais do potencial agente de controle permitirá introduzi-lo sem a presença desses, principalmente parasitoides e predadores, que poderiam malograr qualquer programa de controle biológico. A facilidade de criação e a existência de informações bibliográficas sobre o organismo, ou pelo menos sobre seus congêneres, são também condições que favorecem a seleção de um bom agente de biocontrole. A maioria dos organismos encontrados durante o levantamento de potenciais agentes de biocontrole, associados à planta-alvo, não contempla os

aspectos biológicos e ecológicos, o que não os exclui dos testes para a seleção. A experiência dos pesquisadores deve proporcionar o equilíbrio necessário para que não se deposite muitos esforços em organismos que não sejam bons candidatos.

Esses foram aspectos básicos para o entendimento de etapas importantes na implementação de um programa de controle biológico clássico com artrópodes herbívoros. Como literatura adicional, sugerem-se: DeBach (1987), Samways (1990), Julien e White (1997), Mcfadyen (1998), Pedrosa-Macedo e Bredow (2004), Cuda (2009).

Os princípios e protocolos adotados com fungos no controle biológico de plantas invasoras pela estratégia clássica têm sido os mesmos desenvolvidos e empregados pelos entomologistas, com considerável sucesso (Evans et al., 2001). Embora os primeiros estudos tenham sido desenvolvidos com artrópodes, agentes fitopatogênicos, em especial os fungos, despertaram grande interesse, a partir de 1971, com a introdução de um fungo biotrófico causador de ferrugem [*P. chondrillina* (Basidiomycota)] de origem mediterrânea, para o controle de *C. juncea* em campos de trigo e pastagens na Austrália, conforme mencionado anteriormente. O sucesso desse programa de controle biológico foi espetacular, pois houve redução drástica das infestações, cujos benefícios foram estimados em US\$ 15 milhões por ano. Outro caso de sucesso ocorreu com a introdução, em 1975, do fungo *Entyloma ageratina* Barreto & Evans, para controle de *Ageratina riparia* (Regel) R.M.King & H.Rob. (Asteraceae) no Havaí, onde as terras agrícolas maciçamente infestadas foram recuperadas, e os ecossistemas naturais estão protegidos de novas invasões (Evans et al., 2001).

Apesar desses exemplos de sucesso com uso de fungos no controle de espécies invasoras pela estratégia clássica, existe quase que uma conformidade no sentido do uso de bio-herbicidas desenvolvidos a partir de patógenos nativos para situações em que a liberação de organismos exóticos possa gerar conflitos de interesse. Por outro lado, existe também o pressuposto de que o controle biológico clássico, ao contrário dos métodos de controle mecânico e químico, provocaria uma redução gradual na população de plantas invasoras, porém a erradicação dificilmente ocorreria. Dessa forma, a planta poderia ser mantida em um nível mais baixo de abundância, e como parte de uma comunidade mais diversificada, resolvendo-se eventuais conflitos de interesse (Mello; Ribeiro, 1998).

É importante enfatizar que o controle biológico clássico é o único método economicamente adequado para o manejo em longo prazo de infestações maciças de espécies invasoras exóticas, especialmente em vastas áreas e/ou em ecossistemas ecologicamente sensíveis, em que métodos de controle convencionais são impraticáveis ou não indicados. Em outros casos, especialmente em áreas agrícolas, a

estratégia inundativa poderia sustentar medidas de controle mais adequadas (Evans et al., 2001).

Apesar de os custos iniciais do controle biológico clássico serem elevados, pois são necessárias viagens aos centros de origem das espécies-alvo e testes em condições especiais, não há custos recorrentes após a colonização do novo ambiente pelo agente introduzido, já que, uma vez liberado, propaga-se e se autopropetua no ambiente. Custos subsequentes são geralmente requeridos apenas para o monitoramento do agente de biocontrole após liberação no novo ambiente. O aumento do número de indivíduos no ambiente para promover o controle biológico baseia-se na capacidade nata do agente de biocontrole de se reproduzir e se disseminar no ambiente, a um nível que proporcione o controle da planta-alvo. Esse método não prevê a manipulação do agente de biocontrole em laboratório. Realizados os testes de eficácia e determinação do círculo de hospedeiras, necessários para mitigar eventuais riscos ao ambiente, o organismo é liberado em uma seção limitada da área infestada, de modo a causar uma epidemia progressiva, sendo esperado que ocorra a disseminação progressiva do agente e o controle da espécie-alvo. Trata-se de uma estratégia que não implica em custos adicionais aos realizados nas etapas de desenvolvimento e liberação, particularmente útil para o manejo de plantas invasoras que se disseminam em grandes áreas, como pastagens, ambientes naturais, ambientes aquáticos ou florestas, bem como de plantas invasoras que se reproduzem vegetativamente e são, portanto, geneticamente homogêneas. Nessas situações, as plantas invasoras representam alvos ideais para controle pelos agentes com os quais eles tenham coevoluído e dos quais tenham sido separadas por período relativamente curto de tempo. Se as condições são favoráveis, o agente se multiplica e se dissemina no habitat, limitando o crescimento da planta invasora e reduzindo sua disseminação. As populações da espécie invasora declinam lentamente até que, após vários meses ou anos, atinjam o nível desejado de controle. Portanto, nessa estratégia a ação do agente de biocontrole difere completamente da ação do bio-herbicida, cujo sucesso comercial é um componente crítico.

A fim de estabelecer a aplicação do controle biológico de forma segura, faz-se necessário não só coletar agentes de um habitat, multiplicá-los e colocá-los em um novo habitat, com o intuito de que algo positivo aconteça. Isso deve ser complementado com o conhecimento da biodiversidade na área, anteriormente à liberação do agente, seguido de monitoramento detalhado e de longo prazo após liberação.

A especificidade de hospedeiros é o fator mais importante na avaliação de microrganismos para o controle biológico clássico de invasoras (Evans, 2013). Ela forma a base da análise de risco a ser apresentada às autoridades no país de recebimento

do microrganismo candidato, da qual o principal objetivo é demonstrar especificidade à planta invasora-alvo.

A avaliação da especificidade de hospedeiro para avaliar o risco envolvido em liberações de agentes de biocontrole exóticos tem sido extensivamente relatada na literatura pertinente ao controle biológico de plantas invasoras (Louda et al., 2003; Sheppard et al., 2003) pela abordagem clássica de controle biológico.

O teste de especificidade de hospedeiro começa com a seleção de plantas a serem testadas, e essa seleção é única para cada espécie de planta e para cada país. Nas primeiras décadas de utilização do controle biológico de plantas invasoras, os efeitos em plantas não alvo concentraram-se em possíveis impactos em plantas cultivadas com interesse econômico e, somente a partir da década de 1970, o foco passou às plantas nativas.

Avanços recentes em filogenia de plantas podem levar à melhoria na listagem das plantas-teste. Esse método seleciona plantas primariamente com base em suas relações filogenéticas com a planta invasora-alvo, contemplando aspectos biogeográficos e ecológicos a fim de garantir que as plantas a serem testadas incluam espécies com maior risco associado. Procedimentos atuais de seleção incluem espécies que ocorrem no mesmo habitat da espécie-alvo, espécies com química similar e espécies infectadas por parentes próximos dos potenciais agentes de controle biológico, bem como espécies raras ou em perigo de extinção (Briese, 2004).

Controle biológico inundativo

O controle biológico que usa a estratégia inundativa, também chamada de abordagem de bio-herbicida, consiste na utilização de um agente de biocontrole (fungos, bactérias, preferencialmente) previamente associado à planta-alvo, multiplicado massalmente, formulado e aplicado de modo semelhante a um herbicida químico, no local onde a população da planta invasora tornou-se problemática. Por isso, o termo mais usado para essa estratégia é controle biológico inundativo. Apesar da ampla literatura sobre potenciais bio-herbicidas, quase inteiramente sobre fungos, há pouco uso real destes do ponto de vista comercial ou prático. Ademais poucos bio-herbicidas foram registrados comercialmente até o presente momento. Detalhes de diferentes bio-herbicidas já comercializados em âmbito mundial podem ser encontrados em Tessmann (2011), Bailey e Falk (2011), Aneja et al. (2013), Harding e Raizada (2015) e Cordeau et al. (2016).

Os princípios da abordagem inundativa foram delineados de modo a contemplar o emprego de fitopatógenos em grandes doses, a fim de se obter rápido

desenvolvimento epidêmico, pois, apesar de os organismos, por vezes, estarem presentes na natureza, seu potencial de causar epidemias que reduzam a população da planta invasora é pequeno. Isso ocorre geralmente em razão do baixo nível de disseminação do patógeno no ambiente ou da reduzida disponibilidade de inóculo natural. Para provocar grandes epidemias, lança-se mão de inoculações artificiais, utilizando grande quantidade de inóculo produzido em meios artificiais, em toda a área onde a população da planta invasora tornou-se problemática, à semelhança de um herbicida químico. A abordagem inundativa é melhor delineada para sistemas agrícolas intensivos, pois o constante distúrbio do ambiente favorece o desequilíbrio ecológico e, por outro lado, também favorece a ocorrência de ciclos de destruição do inóculo presente no solo.

Dentre os principais fatores que garantem o sucesso de um bio-herbicida, podem ser listados: a efetividade relacionada à virulência à espécie-alvo, o potencial de comercialização, a especificidade (gama de hospedeiros), a velocidade de ação, a facilidade de crescimento *in vitro*, a compatibilidade com outros agrotóxicos e o tamanho do mercado. Fungos fitopatogênicos facultativos geralmente apresentam facilidade de cultivo em meios artificiais, a exemplo do gênero *Colletotrichum*, entre outros e, dessa forma, possibilitam a produção em larga escala e o uso em doses massivas. Fitopatógenos necrotróficos, que, ao infectarem as plantas, matam as células e colonizam os tecidos mortos, são os preferidos em programas de controle biológico inundativo.

Ao analisar o mercado para o desenvolvimento de bio-herbicidas, as oportunidades parecem ser menores para culturas para as quais há alternativas químicas abundantes, a despeito do crescente surgimento de populações resistentes a determinados herbicidas. Nesse contexto, vale ressaltar que os bio-herbicidas são uma ferramenta para diversificar a pressão de seleção em plantas invasoras, particularmente em situações em que os herbicidas químicos não são efetivos porque as populações já são resistentes. Também se observa uma crescente demanda por bio-herbicida para culturas cujo valor comercial unitário é alto, como os sistemas produtivos de base ecológica e os denominados *minor crops*, para os quais os custos de manejo de plantas invasoras são caros, ou não há os herbicidas químicos ou cujo uso não é permitido.

Controle biológico pela estratégia aumentativa

O controle biológico pela estratégia aumentativa tem sido implementado com o uso de insetos fitófagos e fungos fitopatogênicos, os quais são aplicados periodicamente em parte da área onde se pretende obter o controle.

Em relação à utilização de insetos na estratégia aumentativa, destaca-se a liberação periódica do curculionídeo *Cyrtobagous salviniae* Calder & Sands 1985 (Curculionidae), para o controle da planta aquática *S. molesta* D.S. Mitch. (Salviniaceae), na Austrália.

Referente ao controle biológico aumentativo, em âmbito global, há um número pequeno de bio-herbicidas derivados de microrganismos no mercado e poucos são os países que os comercializam, a saber: quatro bio-herbicidas disponíveis nos Estados Unidos; três no Canadá e apenas um na Ucrânia. Um exemplo bastante citado é o Dr. Biosedge, produto à base de *Puccinia canaliculata* (Schwein) Lagerh., desenvolvido para o controle da tiririca-amarela [*Cyperus esculentus* L. (Cyperaceae)] e registrado na Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (Phatak, 1992). Por ser um produto à base de fungo parasita obrigatório, além da dificuldade de produção em larga escala do inóculo fúngico, outro fator limitante para uso como bio-herbicida é a elevada especificidade, fato que o torna ineficaz contra certos biótipos da planta-alvo.

Manejo do agroecossistema para o controle biológico conservativo

O método conservativo é o menos estudado e aplicado, provavelmente pela dificuldade em compreendê-lo por causa da complexidade envolvida. Não se trata aqui de uma estratégia de aplicação de agentes de controle biológico (Newman et al., 1998), mas de uma abordagem baseada no manejo do agroecossistema a fim de promover a redução da população de plantas invasoras que, em determinado ambiente, tenha atingido o status de praga. Na visão de Eilenberg et al. (2001), consiste na modificação do ambiente (ou nas práticas existentes), de modo a proteger ou favorecer agentes específicos de controle, com o intuito de reduzir o dano ocasionado pelas pragas.

No controle biológico conservativo de plantas invasoras, busca-se fomentar os agentes de controle das plantas-alvo por meio de práticas que: reduzam a mortalidade desses agentes de controle biológico, promovam fontes suplementares de alimentos ou facilitem o efetivo forrageamento dos inimigos naturais no caso dos insetos (Westerman et al., 2008) e, como meta de longo prazo, procurem reduzir as densidades populacionais de espécies invasoras-alvo (Landis et al., 2000).

Numa visão holística da produção agrícola, há de se considerar que futuras infestações de plantas invasoras serão provenientes das sementes formadas na área de cultivo; por isso alguns autores apontam que a predação de sementes é a maneira mais fácil e segura de se prever a diminuição da população de determinadas espécies de plantas invasoras no ano seguinte (White et al., 2007). Existem registros de vá-

rias espécies de artrópodes que desempenham controle significativo pela predação de sementes de plantas invasoras (Julien, 1992), porém a interferência das práticas de manejo na predação de sementes, especialmente por insetos, ainda é pouco explorada. A influência das práticas de cultivo empregadas em agroecossistemas sobre a predação de sementes em áreas cultivadas de espécies como *Echinochloa crusgall* (L.) P. Beauv. (Poaceae), *Chenopodium album* L. (Chenopodiaceae) e *Amaranthus* spp., dentre outras, pode ser verificada em abordagem de Balbinot Júnior et al. (2002).

Muitos fungos são ativos no solo, porém poucas espécies têm sido investigadas quanto ao potencial antagonismo a espécies invasoras. Entretanto, esses importantes componentes da flora microbiana podem ser manipulados indiretamente, e de modo a favorecê-los, por meio de práticas culturais de manejo, como cultura de cobertura, rotação de culturas e manejo de resíduos vegetais, de modo a acelerar as taxas de apodrecimento de sementes de plantas invasoras a partir do solo (Li; Kremer, 2000).

Vale ressaltar a importância de se caracterizar as interações bióticas relevantes no contexto de comunidades e os efeitos das práticas de manejo sobre as mesmas, de modo a delinear sistemas sustentáveis que favoreçam a ocorrência natural de microrganismos de controle biológico de plantas invasoras (Thrall et al., 2007). Um modelo ecológico de conservação deve levar em conta a redução da competitividade das plantas invasoras nos sistemas agrícolas sem, no entanto, matá-las.

O manejo para maximizar o consumo de sementes de plantas invasoras por predadores e o apodrecimento das mesmas por bactérias e fungos deve ser incentivado com maior intensidade no futuro a fim de contribuir para o sucesso prático de sistemas sustentáveis de produção, mas, conforme apontado por Balbinot Júnior et al. (2002), ainda há um longo caminho a ser percorrido para esclarecer os fatores envolvidos nesse tipo de regulação de espécies invasoras.

PREDISPOSIÇÃO DAS PLANTAS INVASORAS AO BIOCONTROLE

Fatores do ambiente e do hospedeiro sobre os agentes de biocontrole

Agentes de controle biológico com ampla tolerância climática devem ser escolhidos cuidadosamente, uma vez que organismos especializados, que apresentem distribuições restritas à sua região de origem, podem apresentar tolerância climática

estreita, o que limitaria sua habilidade em controlar a espécie-alvo em toda sua distribuição espacial. Agentes de controle biológico, selecionados a partir de áreas com condições climáticas similares, tendem a produzir efeito satisfatório de manejo, porém a incompatibilidade climática entre as áreas de origem e de introdução é, por muitas vezes, considerada uma das principais razões pela qual os agentes de controle biológico não se estabelecem ou não formam populações efetivas (Byrne et al., 2002; Hoelmer; Kirk, 2005).

No caso de microrganismos agentes de biocontrole, uma planta que passa a se desenvolver na ausência do patógeno, após várias gerações, tende a ser, teoricamente, mais vulnerável quando restabelecido o contato com o mesmo (Charudattan, 1991). Porém, o sucesso do estabelecimento do agente introduzido depende em grande parte do grau de semelhança do novo ambiente com seu ambiente de origem. Ainda, mesmo que o clima do novo ambiente lembre o ambiente de origem do agente, este pode falhar pela falta de um hospedeiro alternativo na área, não adaptação ao ambiente da planta-alvo ou presença de parasitas nativos que podem adaptar-se ao agente de biocontrole, limitando sua eficiência. Assim, o conhecimento dos fatores ecológicos requeridos pelo agente envolvido desempenha papel-chave na determinação do sucesso do controle biológico (Mello; Ribeiro, 1998).

Bio-herbicidas aplicados à parte aérea de plantas são severamente afetados pela falta de água livre para promover a germinação de esporos, crescimento e colonização/infecção, pois patógenos, em geral, requerem longos períodos de umidade, mas os períodos úmidos são geralmente curtos e irregulares. Chuvas são de difícil previsão e podem não ocorrer quando o controle da espécie invasora é necessário. Apesar dos recentes avanços nas pesquisas em formulações de herbicidas biológicos, utilizando polímeros como álcoois polivinílicos ou muciloides de plantas como adjuvantes para superar a dependência de umidade, pesquisas adicionais nesse assunto são ainda requeridas (Evans et al., 2001).

Ainda para agentes microbianos de controle, além da duração do período de umidade, outros fatores abióticos (temperatura, radiação ultravioleta, etc.) e bióticos (concentração de inóculo, idade da planta ideal para inoculação, etc.) são de extrema importância, por isso seus efeitos devem ser estudados para cada bio-herbicida candidato. Dessa forma, bio-herbicidas requerem tipos diferentes de formulações.

Muitas das informações teóricas a respeito da dinâmica de patógenos no controle de plantas invasoras derivam da epidemiologia de doenças nas culturas. Embora com interesse oposto (promover doença ao invés de controlá-la), o desenvolvimento de um programa de controle biológico, independente da estratégia

adotada, depende em grande parte do entendimento dos componentes epidemiológicos envolvidos.

Estudos conduzidos com o fungo *Alternaria cassiae* Jurair & Khan como bio-herbicida para controle do fedegoso, espécie invasora de cultivos de soja e pastagens no Brasil (Mello et al., 2003), revelaram que concentrações de inóculo contendo 10^6 esporos/mL proporcionaram 100% de mortalidade de plântulas. Houve também 100% de mortalidade quando as plantas foram inoculadas entre os estádios vegetativos de folhas cotiledonares até duas folhas definitivas. Um período de umidade (água livre) de 48 horas promoveu mortalidade de 100% de plântulas aos 5 dias após a inoculação. Por outro lado, o condicionamento das plantas, ou seja, água livre nas folhas antes da inoculação, não afetou a severidade da doença. Entretanto, um atraso de 4 horas após a inoculação no período de água livre reduziu a mortalidade de plântulas em 25%. Esses resultados de pesquisa demonstram elevada associação da doença à alta umidade, indicando a necessidade de se estabelecer uma formulação que leve em conta esse aspecto, de modo a garantir a boa eficiência do patógeno em condições de campo.

A existência de variações genéticas em populações de patógenos e também de insetos permite a seleção de isolados mais virulentos e/ou melhor adaptados para propósitos específicos em programas de controle biológico. De modo semelhante, a existência de biótipos diferenciados de uma dada espécie de planta-alvo pode se tornar fator limitante para o uso de um único isolado ou um único inseto como agente de controle biológico. Nesse contexto, os métodos moleculares tornaram-se importantes ferramentas na busca de inferências sobre a estrutura de populações,

Estudo de caso – *Cercospora caricis*, fungo estudado para o manejo da tiririca-roxa.

A avaliação da influência da idade da planta, período de umidade e concentração de inóculo no desenvolvimento dos sintomas causados pelo fungo *C. caricis* em plantas de tiririca-roxa (*Cyperus rotundus*) possibilitou identificar variáveis que, uma vez alteradas, poderiam contribuir para maior eficiência desse organismo como agente de controle biológico (Borges Neto et al., 2000).

O processo de infecção de *C. caricis* em plantas de tiririca-roxa, inoculadas com micélio do fungo, foi estudado por meio de microscopia eletrônica de varredura. As observações sobre o processo de infecção em tecidos foliares de tiririca foram importantes para o desenvolvimento de metodologia de aplicação do fungo. Tornou-se evidente com esse estudo, por exemplo, que as formulações fúngicas deveriam promover a redistribuição e a adesão das partículas na superfície foliar, de modo a atingir os sítios de penetração (estômatos) na superfície abaxial e, ao mesmo tempo, proteger o fungo contra as adversidades ambientais durante a fase de pré-penetração (Mello et al., 2003). Adicionalmente, identificou-se a maior suscetibilidade de plantas mais velhas à infecção, bem como aumento da eficácia do patógeno em controlar a espécie-alvo por meio de aplicações sucessivas do fungo (Borges Neto et al., 2000; Teixeira et al., 2001).

bem como as relações genéticas entre os organismos estudados, a exemplo de *Puccinia canaliculata* (Schwein.) Lagerh, causador da ferrugem da tiririca-amarela.

A habilidade em distinguir genótipos de tiririca-roxa (*C. rotundus*) e tiririca-amarela (*C. esculentus*) e diferentes isolados de ferrugem (*P. canaliculata*) mostrou-se crítica para o desenvolvimento de estratégias de controle biológico dessas espécies invasoras (Okoli et al., 1997).

A análise de DNA polimórfico amplificado ao acaso (RAPD, em inglês, Random Amplified Polymorphic DNA) foi empregada para estudar a diversidade genética em ambas as espécies de tiririca, coletadas em diferentes localizações geográficas, e os autores puderam explicar a suscetibilidade diferencial dos biótipos de tiririca à ferrugem. Se todas as plantas tivessem a mesma base genética, deveriam reagir ao inóculo do mesmo modo, a menos que diferenças nas condições ambientais favorecessem a rápida disseminação da infecção em uma localidade e não em outra. Por outro lado, a ferrugem deveria causar infecção em todos os membros das espécies-alvo, e sua efetividade não deveria ficar limitada a certas localidades. Diferentes estratégias foram, contudo, apontadas como necessárias para o controle biológico das espécies de tiririca com base nos resultados alcançados.

Interações ecológicas do controle biológico de plantas invasoras

Insetos herbívoros

Estima-se que mais da metade das espécies de insetos alimentam-se de plantas e, segundo Schoonhoven et al. (2005), para cada espécie vegetal, o tecido serve como fonte de alimento para pelo menos uma espécie da classe Insecta, o que justifica a busca por esse tipo de agente de biocontrole. Conforme explicitado por Bittencourt (2011), os insetos especialistas são a maioria, pois menos de 10% dos insetos herbívoros alimentam-se de espécies pertencentes a mais de três famílias botânicas.

O efeito do consumo do tecido na planta depende da forma de herbivoria, da intensidade e do padrão de consumo (Schowalter, 2006). Quando a intensidade é alta, geralmente, a herbivoria pode ocasionar problemas às espécies atacadas em razão da redução da área foliar e diminuição do processo de fotossíntese, levando à diminuição do desenvolvimento, com efeitos subsequentes na composição das espécies vegetais no agroecossistema. Há de se considerar, no entanto, que, em intensidade média a baixa de herbivoria, pode haver compensação por parte da planta, com a produção de tecido para compensar, por exemplo, a perda de tecido foliar (Bittencourt, 2011).

Exemplos da utilização de insetos herbívoros para o manejo de plantas invasoras podem ser encontrados neste capítulo na seção Programa de Controle Biológico no Brasil e no Mundo.

Fitopatógenos de parte aérea e de solo

Existe um significativo número de fungos utilizados em programas de controle biológico de invasoras em vários cultivos. Isso se deve, em grande parte, à facilidade de produzi-los, se comparados com os artrópodes e outros agentes de controle biológico de plantas invasoras (Rodosevich et al., 2007).

A depender da interação nutricional que estabelecem, os fungos fitopatogênicos podem ser categorizados como biotróficos, hemibiotróficos e necrotróficos. No caso das espécies fúngicas de interesse ao controle biológico de plantas invasoras, aquelas consideradas biotróficas (parasitas obrigatórios) e hemibiotróficas têm sido as mais pesquisadas. A dependência trófica de fungos biotróficos aos respectivos hospedeiros é resultado de um processo de coevolução ao longo de milhares de anos, de modo que grande parte deles possui hospedeiro específico, aspecto bastante desejado para utilização na abordagem clássica e aumentativa. Fungos causadores de ferrugens (Pucciniales, Uredinales) têm sido empregados com sucesso ao longo dos últimos 35 anos no controle biológico de plantas invasoras, a exemplo de *P. canaliculata*, citado anteriormente.

Espécies hemibiotróficas – possuem uma fase inicial da patogênese durante a qual se comportam como biotróficos, mas conseguem matar as células do hospedeiro –, como *Colletotrichum gloeosporioides* (Pen.) Pen. & Sacc. f. sp. malvae, *Colletotrichum truncatum* (Schwein), *Colletotrichum orbiculare* (Berk.) Arx, *Phoma macrostoma* Mont, *Phoma chenopodiicola* Gruyter, Noordel. & Boerema, *Cercospora caricis* Dearn. & House, *Alternaria destruens* Simmons, *Phytophthora palmivora* Butler (Butler), *Myrothecium verrucaria* (Alb. & Schwein.) e *Fusarium* spp., têm sido investigadas, mundialmente, com foco em bio-herbicidas.

Menos frequentemente, observa-se a utilização de fungos necrotróficos – matam as células do hospedeiro anteriormente à invasão –, como *Sclerotinia minor* Jagger e *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, com essa finalidade.

Detalhes da associação desses microrganismos com as respectivas espécies-alvo, bem como dos mecanismos de ação envolvidos, podem ser verificados em Harding e Raizada (2015).

Além da ação direta sobre as plantas invasoras, fungos patogênicos a sementes também podem ser explorados. Nessa perspectiva, o banco de sementes de plantas

invasoras no solo tende a reduzir drasticamente, tornando o manejo mais eficiente. Maiores informações podem ser obtidas na revisão de Wagner & Mitschunas (2008).

Várias bactérias têm sido investigadas quanto ao potencial de biocontrole de plantas invasoras; entre elas, *Pseudomonas fluorescens* Migula e *Xanthomonas* spp. têm atraído maior atenção (Harding; Raizada, 2015). No caso da primeira, existem muitas cepas das quais algumas são benéficas a plantas (Gamalero et al., 2005) e outras são inibitórias (Banowetz et al., 2008). Dentre aquelas que ocasionam efeitos supressivos, relacionados à inibição do crescimento de plantas e/ou à germinação, há registro da produção de metabólitos extracelulares (Banowetz et al., 2008). Diferentemente, não há relatos da ocorrência de compostos fitotóxicos em investigações direcionadas ao desenvolvimento de *Xanthomonas* spp. como bio-herbicidas para manejo de *Poa annua* L. e *Conyza canadensis* (L.) Cronquist.

Em casos específicos, vírus que afetam espécies de plantas invasoras também têm sido considerados como agentes de biocontrole de plantas invasoras. Sua utilização é mais indicada para o manejo de espécies invasivas em ecossistemas mais amplos do que áreas cultivadas. Um exemplo de vírus investigado quanto ao potencial de controle de espécies invasoras é o *Tobacco mild green mosaic virus* (TMGMV) para controle de *S. viarum* Dunal na Flórida (Diaz et al., 2014). *Obuda Pepper Virus* (ObPV) e *Pepino Mosaic Virus* (PepMV) também são apontados como agentes para reduzir populações de *Solanum nigrum* L. (Kazinczi et al., 2006). A atividade biológica dos vírus difere em muito da patogênese causada por bactérias ou fungos.

Microrganismos não patogênicos da rizosfera

Diversos microrganismos da rizosfera, nativos ou introduzidos artificialmente para restaurar a associação entre microrganismos de solo e raízes de plantas, podem ter efeito positivo, negativo ou neutro no crescimento das plantas, bem como podem interagir com outros membros da comunidade microbiana do solo. Em razão da complexidade da rizosfera e dos fatores físicos, químicos e biológicos que podem interagir com os microrganismos, o entendimento sobre como essa interação afeta o crescimento das plantas, por vezes, tem se mostrado limitado.

Dentre os poucos microrganismos de solo estudados quanto ao potencial de controle biológico de espécies invasoras, destaca-se a espécie de fungo *Trichoderma virens* (*Gliocladium virens*) von Arx. Esse fungo, além de ser amplamente estudado como agente de biocontrole de doenças de plantas, vem sendo indicado como um excelente candidato a programas de controle biológico focados na abordagem bio-herbicida. Sua ação contra fungos fitopatogênicos é, em parte, atribuída à produção

de uma variedade de compostos antibióticos. O composto viridiol, produzido por essa espécie de *Trichoderma*, pode causar fitotoxicidade (Howell; Stipanovic, 1984; Evans, 1998; Héraux et al., 2005a, 2005b), quando presente em altas concentrações no solo ou substrato, inibindo a germinação de sementes. Recentemente, Javaid e Ali (2011) comprovaram que certos metabólitos de *Trichoderma harzianum* Rifai, *Trichoderma reesei* Simmons e *Trichoderma pseudokoningii* Rifai possuem compostos com ação herbicida, assim apresentam potencial de uso contra *Avena fatua* L. (Poaceae). Na região Sul do Brasil, a atividade fitotóxica de isolados de *Trichoderma* foi avaliada como estratégia de seleção de isolados para o desenvolvimento de bio-herbicidas (Rodriguez et al., 2012).

Evidências indicam que a atividade fitotóxica de origem microbiana tem potencial de prevenção de perdas de cultivos agrícolas e de insegurança ocasionadas pelas plantas invasoras. Além de espécies de *Trichoderma*, vários fungos fitopatogênicos são produtores de fitotoxinas, como cyperina e cercosporina, entre outras (Mello et al., 2003). Para que possam ser utilizados como bio-herbicidas, substratos econômicos e que suportem produções desses compostos em níveis elevados devem ser desenvolvidos. Embora a atividade fitotóxica esteja delineada à espécie-alvo, não há efeito deletério significativo desses microrganismos às espécies de interesse econômico, pois a produção desses compostos tóxicos é substrato dependente e, portanto, facilmente controlada (Héraux et al., 2005b).

Outros microrganismos de solo bastante estudados quanto ao seu potencial como agentes de biocontrole de plantas invasoras são as rizobactérias, caracterizadas por colonização agressiva e subsequente estabelecimento nas raízes de plantas. Bactérias inibidoras do crescimento, ou rizobactérias deletérias (RBD) ao crescimento de plântulas invasoras, têm se mostrado bastante atrativas como bio-herbicida (Li; Kremer, 2006; Chutia et al., 2007; Boyette; Hoagland, 2015; Harding; Raizada, 2015; Rakian et al., 2015, 2018), graças aos metabólitos secundários fitotóxicos oriundos de microrganismos não patogênicos (Sayed et al., 2014). Esses compostos são responsáveis pela morte ou retardo no crescimento das plantas-invasoras, de modo a conferir uma vantagem competitiva às espécies cultivadas.

Alguns desses microrganismos rizosféricos suprimem o crescimento das plantas invasoras pela colonização da superfície radicular (Boyette et al., 2014) por produzirem compostos como cianeto (Owen; Zdor, 2001), ácidos orgânicos e moléculas complexas, ou por produzirem reguladores do crescimento de plantas, tais como ácido indolacético e etileno (Saraf et al., 2014; Park et al., 2015). Outro fitormônio, ácido-5-aminolevulínico (ALA), produzido por algumas bactérias deletérias, tem sido relatado (Chon, 2003) em consonância com a promoção do crescimento e rendimento de cultivos agrícolas (Liu et al., 2014). Danos às espécies cultivadas são

inexistentes, em razão da alta especialização que permite a uma mesma linhagem microbiana mostrar-se deletéria a uma determinada espécie-alvo e promotora do crescimento de outras, a exemplo das espécies cultivadas.

Os benefícios econômicos do controle biológico pelo uso de RBD não se relacionam com a completa eliminação das plantas invasoras, mas sim com a redução da habilidade competitiva dessas espécies-alvo com as demais plantas cultivadas (Kremer; Kennedy, 1996).

Certos sistemas de produção influenciam a ocorrência de RBD naturalmente associadas com plântulas invasoras, e as populações desses microrganismos podem ser biologicamente incrementadas, em decorrência de sistemas de manejo que podem favorecer determinados grupos de organismos (Li; Kremer, 2000).

Fungos micorrízicos arbusculares (FMA), ao se associarem com as raízes das plantas, formam uma extensiva rede de hifas no solo, provendo nutrientes em troca de assimilados (Giovanetti et al., 2014). Ademais, desempenham vários efeitos indiretos, como estímulo a agregação e estruturação do solo (Rillig; Mummey, 2006), supressão de alguns patógenos de solo (Sikes et al., 2009), redução da lixiviação de nutrientes (Heijden, 2010), bem como a supressão de várias plantas invasoras (Jordan et al., 2000; Vátovec et al., 2005; Jordan; Huerd, 2008; Heijden et al., 2008). Diferentes espécies de plantas respondem diferentemente aos FMA, e algumas combinações planta-fungo são mais compatíveis do que outras (Avio et al., 2006; Scheublin et al., 2007). Estudos conduzidos com plantas de comunidades naturais mostraram que os FMA frequentemente apresentam efeitos deletérios em espécies de plantas características de ambientes ruderais, onde existe considerável distúrbio ambiental (Francis; Read, 1995). Estudos sugerem que o estímulo de FMA em agroecossistemas pode suprimir algumas plantas invasoras agressivas em contraste ao efeito positivo da diversidade de FMA sobre espécies cultivadas (Rinaudo et al., 2010). Com frequência, muitas espécies invasoras são não hospedeiras ou hospedeiras fracas de FMA. Ademais, na presença de fertilizantes nitrogenados e fósforo, espécies cultivadas, hospedeiras fortes desses fungos, respondem positivamente com maior intensidade do que espécies invasoras também hospedeiras (Li et al., 2016). Porém, é ainda necessário avaliar se plantas invasoras não hospedeiras ou hospedeiras fracas mostram respostas negativas aos FMA, de forma consistente, ou se não hospedeiras e hospedeiras fracas são mais comuns entre as plantas daninhas do que em espécies cultivadas. Se confirmada a vulnerabilidade diferencial de plantas invasoras a FMA, em relação às espécies cultivadas, esse fato poderia ser explorado como estratégia de manejo integrado das primeiras.

PROGRAMAS DE CONTROLE BIOLÓGICO

Comercialização de bio-herbicidas

Embora existam relatos de nematoides com potencial de utilização em programas de controle biológico (Robinson et al., 1978; Watson, 1986; Wapshere, 1988; Parker, 1991; Seixas et al., 2004a, 2004b, 2007), não há ainda qualquer registro de produto ou histórico de uso desses organismos para o controle de plantas invasoras.

Quanto às bactérias, apenas o produto Camperico, à base de *Xanthomonas campestris* pv. *poae*, foi disponibilizado no mercado japonês para o controle de capim-galinha (*Poa annua*, Poaceae) (Imaizumi et al., 1997; Nishino; Tateno, 2000).

No caso de vírus, o produto SolviNix, desenvolvido a partir do *Tobacco mild green mosaic* (TMGMV), está sendo comercializado, desde 2015, pela BioProdex Inc., nos Estados Unidos da América (EUA), para o controle de joá-bravo (*S. viarum* Dunal, Solanaceae) em áreas de pastagens protegidas (comunicação pessoal)², pois o mesmo vírus foi detectado infectando *Capsicum annuum* L., na Tunísia, em 2009 (Font et al., 2009).

A maioria dos produtos comercializados nos EUA e no Canadá são baseados em formulações de espécies fúngicas, embora poucos tenham tido sucesso de longo tempo (Tabela 1). Por outro lado, grande número de projetos de pesquisa foi desenvolvido entre as décadas de 1970 a 2000, mas poucos chegaram ao desenvolvimento de produtos em razão de dificuldades como: aspectos biológicos (baixa virulência); ambientais (requerimentos de temperatura e umidade), anteriormente explicitados; tecnológicos (requerimentos de produção massal e formulação) e comerciais (análise de mercado, registro) (Pacanoski, 2015).

Falhas de alguns bio-herbicidas de origem fúngica têm sido atribuídas à pobre virulência de agentes patogênicos. Citam-se como esforços para aumentar a virulência de fitopatógenos agentes de biocontrole de invasoras a interferência nos mecanismos de defesa da planta (Ahn et al., 2005) e o emprego de sinergia para garantir a virulência (Gressel, 2010). Outros desafios a serem enfrentados a fim de garantir a produção industrial e a eficácia dos bio-herbicidas sob condição de campo são aqueles relacionados à manutenção da consistência do produto durante o incremento nos volumes de produção na indústria, à manutenção de fatores abióticos favoráveis ao agente de biocontrole no campo, à tecnologia de aplicação, bem como ao comportamento frente a outros insumos empregados no agroecossistema. Essas

² Comunicação efetuada durante o 15º Simpósio de Controle Biológico, pelo Dr. Rhagavan Charudattan, presidente e CEO da BioProdex Inc., em Ribeirão Preto, SP, 2017.

Tabela 1. Bio-herbicidas de origem fúngica para diferentes plantas-alvo e culturas, com desenvolvimento concluído, registrados ou comercializados.

Produto comercial	Agente de biocontrole	Planta-alvo	Cultura	País	Ano ⁽¹⁾	Status corrente	Referência
Albobacteryn/ Unknown	<i>Achromobacter album</i>	Várias	Várias	Ucrânia	Desconhecido	Desconhecido	Kabaluk et al. (2010)
DeVine/Valent BioSciences Crop	<i>Phytophthora palmivora</i> (E. J. Butler) E. J. Butler	<i>Morrenia odorata</i> (Hook. & Arn.) Lindl.	Citros	EUA	1981	Não comercializado desde 2006	Kenney (1986)
Collego/ Encore Technologies	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> f. sp.	<i>Aeschynomene virginica</i> (L.) B.S.P.	Arroz/soja	EUA	1981 e 2006	Comercializado	Bowers (1986)
Lockdown/ Natural Industries	<i>Aeschynomene</i> B. Weir & P.R. Johnst						
BioMal/ Philom Bios Inc. (Novozymes)	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> f. sp. <i>Malvae</i> Mortensen	<i>Malva pusilla</i> Sm.	Várias culturas	Canadá	1992	Não comercializado desde 2006	Boyetchko et al. (2007)
Woad Warrior/ Greenville Farms	<i>Puccinia thlaspeos</i> C. Shub.	<i>Isatia tinctoria</i> L.	Pastagens, borda rodoviária	EUA	2002	Não comercializado	Kabaluk et al. (2010)
Mycotech Paste/ Mycro-Forestis Corp.	<i>Chondrostereum purpureum</i> (Fr.) Pouz.	<i>Prunus serotina</i> Ehrh. e <i>Populus euramericana</i> Guinier	Florestas, borda rodoviária	Canadá	2002	Não comercializado desde 2008	Hintz (2007)
Chontrol Paste/ EcoClear Mycologic Inc.	<i>C. purpureum</i> (Fr.) Pouz.	Rebrota de árvores e arbustos decíduos	Florestas, borda rodoviária	Canadá/ EUA	2004	Comercializado	Bailey (2010), Hintz (2007)
Smoulder/ Loveland Products Inc. E Sylvan Bio Inc.	<i>Alternaria destruens</i> L.	<i>Cuscuta</i> spp.	Agricultura/ horticultura	EUA	2005	Comercializado	Kabaluk et al. (2010)
Sarritor/ Sarritor Inc.	<i>Sclerotinia minor</i> Jagger	Plantas de folha larga	Gramma	Canadá	2007 (condicional); 2010 (registro completo)	Comercializado	Steward-Wade et al. (2002)
Organo-Sol/Kona AEF Global	<i>Lactobacillus</i> spp.	Plantas de folha larga	Gramma	Canadá	2010	Comercializado	Kabaluk et al. (2010)

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Produto comercial	Agente de biocontrole	Planta-alvo	Cultura	País	Ano ⁽¹⁾	Status corrente	Referência
Produto de nome não especificado/ Scotts Company	<i>Phoma macrostroma</i> Montagne	Plantas de folha larga	Grama	Canadá/ EUA	2011 (condicional); registro completo em 2012	Não comercializado	Bailey e Falk (2011)
MBI-005 EP/ Opportune Marrone Bio Innovations Inc.	<i>Streptomyces</i> spp.	<i>Taraxacum officinale</i> F.H.Wigg.	Grama	Canadá	2012	Desconhecido	Marrone Bio Innovations Inc.
HAKATAK	<i>Colletotrichum acutatum</i> J. H. Simmonds	<i>Hakea sericea</i> Schrad. & J. C. Wendl.	Vegetação nativa	África do Sul	Sem registro	Disponibilizado inicialmente a pedido; status atual desconhecido	Morris et al. (1999)
ABG-5003 Abbott Lab	<i>Cercospora rodmanii</i> Conway	<i>Eichhornia crassipes</i> (Martius) Solms Laubach)	Vegetação aquática	EUA	1984	Desconhecido	Charudattan (1991, 2001)
CASST™	<i>Alternaria cassia</i> Jurair & A. Khan	<i>Cassia obtusifolia</i> L.; <i>Cassia occidentalis</i> L.	Soja e amendoim	EUA	1983	Não mais comercializado	Charudattan et al. (1986)
Dr BioSedge	<i>Puccinia canaliculata</i> (Schwein.) Lagerh	<i>Cyperus esculentus</i> L.	Soja; cana-de- açúcar; milho; batata e algodão	EUA	1987	Nunca comercializado	Phatak et al. (1982)
Luboa	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> f. sp. <i>Cuscutae</i> T. Y. Zhang	<i>Cuscuta</i> sp.	Soja	China	1963	Desconhecido	Templeton (1992)
Biochon	<i>Chondrostereum purpureum</i> (Perz) Pouzard	<i>Prunus serotina</i> Ehrh.	Florestas plantadas	Países Baixos	1997	Não comercializado desde 2000	Dumas et al. (1997)
Stumpout	<i>Cylindrobasisidium leave</i> (Pers.) Chamuriz	<i>Prunus serotina</i> Ehrh.	<i>Acacia</i> spp. em vegetação nativa e reservatórios de água	África do Sul	1997	Comercializado	Shamoun e Hintz (1998)

⁽¹⁾ Ano de proteção, registro ou revisão.

Fonte: Adaptado de Dagno et al. (2012), Bailey (2014) e Cordeau et al. (2016).

situações foram abordadas de forma mais aprofundada em Harding e Raizada (2015). Somam-se a esses dois outros aspectos, cruciais para o perfeito estabelecimento dos agentes sob condição de campo: (i) a necessidade de investir esforços a fim de desvendar o(s) mecanismo(s) de ação envolvido(s) na atividade supressiva de um dado agente de biocontrole, em muitos casos ainda pouco esclarecidos; (ii) a busca por novas formas de veiculação dos agentes a fim de garantir o direcionamento adequado sobre o alvo biológico e a sua estabilidade sob condições adversas.

Há de se considerar que a agricultura caminha a passos largos para o estabelecimento de sistemas biológicos de produção em virtude da existência crescente de resistência das plantas invasoras aos herbicidas químicos, ausência de novas moléculas com potencial herbicida, restrições da sociedade quanto ao uso de agroquímicos e expansão da agricultura orgânica. Assim sendo, espera-se que ideias inovativas cheguem ao mercado, em consonância com a atuação conjunta da indústria, sociedade e pesquisa, para que as dificuldades verificadas no desenvolvimento de bio-herbicidas possam ser sanadas.

Controle biológico clássico com insetos

Muito do sucesso do controle biológico clássico de plantas invasoras está baseado no uso de insetos (Day; Winston, 2016).

Existem várias espécies de plantas com origem no território brasileiro e também na América do Sul, que são consideradas causadoras de invasão biológica nos mais diversos locais do mundo. Algumas delas se destacam pela existência de programas de controle biológico clássico, bem-sucedidos em maior ou menor escala, entre as quais (Winston et al., 2014):

- Controle de joá-bravo – Introdução na Flórida, EUA, de *Gratiana boliviana* Spaeth (Coleoptera: Cassidinae), a partir da Argentina e Paraguai.
- Controle de aguapé – Introduções na costa do Golfo do México, EUA, no continente africano e na Austrália de *Neochetina eichhorniae* Warner e *Neochetina bruchi* Hustache (Coleoptera: Curculionidae), originários da Argentina; e também introdução na África do Sul, Benin e China de *Eccritotarsus catarinenses* Carvalho (Hemiptera: Miridae), originário do Brasil e Peru.
- Controle de tradescância [*T. fluminensis* (Commelinaceae)] – Introdução na Nova Zelândia de *Lema basicostata* Monrós (Coleoptera: Chrysomelidae), originária do Brasil.

- Controle de sensitiva ou aneleira [*Mimosa diplotricha* (Fabaceae)] – Introdução na Austrália, Guam, Micronésia e Papua Nova Guiné de *Heteropsylla spinulosa* Mudman (Hemiptera: Psyllidae), originária do Brasil.
- Controle de chuva-de-ouro [*Parkinsonia aculeata* (Fabaceae)] – Introdução na Austrália de *Penthobruchus germani* Pic (Coleoptera: Chrysomelidae), originária da Argentina.
- Controle da macrófita *Myriophyllum aquaticum* (Haloragaceae) – Introdução na Austrália de *Lysathia* sp. (Coleoptera: Chrysomelidae), originária do Brasil.
- Controle da macrófita salvínia ou salvínia gigante [*S. molesta* (Salviniaceae)] – Introdução na Austrália, Botswana, EUA, Fiji, Gana, Índia, Quênia, Malásia, Mauritânia, Namíbia, Papua Nova Guiné, Senegal, Sri Lanka, Zâmbia e Zimbábwe de pela introdução de *Cyrtobagous salviniae* Calder e Sands (Coleoptera: Eirrhinidae), a partir do Brasil.
- Controle da planta ornamental lantana [*L. camara* (Verbenaceae)] – Introdução na Austrália, África do Sul, Guam, Havaí, Ilhas Maurício, Ilhas Salomão, Nova Caledônia e Samoa de *Uroplata girardi* Pic (Coleoptera: Chrysomelidae), a partir do Brasil e Argentina.

Recentemente, novos agentes foram selecionados para controle de plantas sul-americanas, como o araçazeiro [*P. cattleianum* (Myrtaceae)], planta invasora introduzida no estado americano do Havaí e a introdução de um inseto galhador de folhas *Tectococcus ovatus* Hempel (Hemiptera: Eriococcidae), originário do Brasil (Vitorino et al., 2000; Johnson, 2005; Wessels et al., 2007). Para o controle da planta comumente chamada de ora-pro-nóbis [*P. aculeata* (Cactaceae)], invasora na África do Sul e introduzida pelo Jardim Botânico da cidade de Cape Town (McGibbon et al., 1858 citado por Paterson et al., 2011), as introduções, originárias do Brasil, de *Phenrica guerini* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae) (Zimmermann et al., 2009) e *Catorhintha schaffneri* Brailovsky e Garcia (Hemiptera: Coreidae) (Paterson et al., 2014a, 2014b); e as recentes solicitações e aprovações de liberação para introdução de *Calophya latiforceps* Burckhardt (Hemiptera: Psyllidae) e *Pseudophilothrips ichini* Hood (Thysanoptera: Phlaeotripidae) (Wheeler et al., 2016) para o controle da aroeira, também conhecida como pimenteira-rosa, no estado americano da Flórida.

Controle biológico clássico envolvendo microrganismos

Os melhores resultados com o uso de microrganismos com a abordagem clássica de controle de invasoras foram obtidos no continente americano e na Austrália,

onde um grande número de espécies exóticas foi introduzido. Desde a década de 1970, numerosas foram as tentativas e algum sucesso foi obtido nos Estados Unidos (Charudattan, 2005).

Dentre as intervenções mais bem-sucedidas, destaca-se o controle de *Acacia saligna* (Labill.) H. L. Wendl. com *Uromycladium tepperianum* Sacc., uma ferrugem introduzida na África do Sul, a partir da Austrália, a área de origem da planta invasora (Morris et al., 1999). *Acacia saligna* é considerada a espécie invasiva mais importante na África do Sul. O fungo causa o desenvolvimento de galhas nos ramos que se quebram e caem, levando a planta à morte. O fungo, introduzido nos anos de 1987 a 1989, resultou em redução estimada de 90% a 95% na densidade da espécie-alvo (Morris et al., 1999).

Sucesso também foi verificado com o uso de *P. chondrillina* Bulbak & Syd., nativa do Mediterrâneo, para o controle de *C. juncea* L. na Austrália. Estima-se que os benefícios obtidos pela liberação do fungo foram 100 vezes maiores do que os custos investidos no programa (Cullen, 1985). Estudos anteriores haviam possibilitado o entendimento de que os patótipos do fungo diferiam quanto aos biótipos da planta-alvo que infestavam e, adicionalmente, quanto ao ciclo de vida nesses vários biótipos, o que levou ao insucesso quando o fungo foi introduzido nos Estados Unidos (Adams; Line, 1984).

Outro exemplo de programa bem-sucedido envolveu o uso de *E. ageratinae* R.W. Barreto & H.C. Evans, coletado na Jamaica, para o controle de *Ageratina riparia* R.M. King & H. Rob, uma planta invasora introduzida do México. Após a introdução do fungo, a população de *A. riparia* foi reduzida a menos de 5% em apenas 9 meses. Estima-se que cerca de 50 mil hectares foram reabilitados para pastagens após a introdução do fungo (Trujillo, 2005). O fungo foi também introduzido na Nova Zelândia entre 1998 e 2001, em combinação com o inseto *Procecidochores alani* Steyskal, 1974 (Diptera: Tephritidae), afetando significativamente o controle da planta invasora naquele país (Barton et al., 2007).

DETERMINAÇÃO DO SUCESSO DOS AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO

Os programas de controle biológico carecem de um procedimento de avaliação mais preciso. Geralmente, considera-se que o sucesso foi alcançado quando a população da planta-alvo é significativamente reduzida. Ainda que diferentes metodologias possam ser utilizadas para avaliar o sucesso de um programa de

controle biológico de uma planta invasora, normalmente são empregados critérios ecológicos de difícil quantificação, ou mesmo descrições qualitativas dos benefícios sociológicos ou ambientais (Julien; White, 1997). Conforme Blossey (2007), outros indicadores de sucesso podem ser elencados e relacionam-se ao pleno estabelecimento e crescimento populacional dos inimigos naturais, aos impactos em plantas individuais e na população da planta-alvo, aos custos reduzidos dispensados com outras medidas de controle e à redução ou eliminação dos impactos negativos ocasionados pela planta-alvo invasora.

Ao se definir o sucesso do controle biológico, deve-se ter em mente o objetivo do manejo da invasora. O objetivo influencia as decisões relacionadas à seleção do agente e, em última análise, é o critério que deve nortear o sucesso de agentes de biocontrole, individualmente, bem como os programas de controle biológico. O sucesso do controle biológico contempla tanto a priorização da planta-alvo invasora (Paynter et al., 2012) quanto dos agentes potenciais (Van Klinken; Rraghu, 2006).

Sob a perspectiva de seleção do agente, o sucesso depende da planta invasora e do contexto no qual se insere (Shea et al., 2005). Dessa forma, a modelagem ecológica, descrevendo a dinâmica das interações agente-invasora, tem sido intensamente utilizada na tomada de decisão sobre qual agente selecionar para liberação (Sheppard et al., 2003). Por outro lado, a seleção do agente com foco na perspectiva das plantas, ou seja, que tipo de dano é requerido para causar o impacto desejado na planta-alvo invasora e/ou em sua população, bem como na capacidade do agente em atingir densidade suficiente para causar impacto no ambiente onde se deseja o controle, também têm sido considerados (Van Klinken; Rraghu, 2006).

Se, por um lado, no manejo pelo biocontrole, muito esforço tenha sido direcionado à seleção e à avaliação dos agentes de biocontrole de plantas invasoras, por outro, pouca pesquisa tem sido empreendida a fim de identificar critérios para a seleção da invasora-alvo.

Estratégias para priorização da invasora potencial, embora nem sempre levem à predição de risco crível e objetivo, enfatizam o impacto da planta invasora (Moran et al., 2005) de forma mais acentuada em relação ao custo ou à viabilidade de controle; esse último de difícil estimativa antes do início de um programa de controle biológico. Essa deficiência é particularmente pertinente ao controle biológico clássico, que pode ter altos custos de desenvolvimento (Fowler et al., 2000), sem necessariamente atingir o sucesso esperado. De acordo com esses autores, aproximadamente um em seis programas falham em proporcionar qualquer impacto.

Peschen e McClay (1995) desenvolveram, no Canadá, um sistema de pontuação de acordo com os custos econômicos da invasora, a probabilidade de geração de

conflito de interesse (se ou não a invasora tem algum valor econômico ou ambiental capaz de resultar em oposição ao programa de biocontrole), bem como níveis de atributos biológicos assumidos por contribuírem com o sucesso de biocontrole, a saber: (i) variabilidade genética; (ii) modo de reprodução da espécie invasora; (iii) abundância relativa; (iv) sucesso de programas prévios de biocontrole; (v) estabilidade do habitat; (vi) número de espécies de plantas nativas, ornamentais e econômicas no mesmo gênero e/ou tribo da invasora; e (vii) o alcance geográfico nativo da planta invasora.

Paynter et al. (2012) compilaram dados de impactos quantitativos de programas de biocontrole para 80 espécies invasoras na Austrália a fim de estabelecer um modelo capaz de assistir a priorização de invasoras para aumentar a habilidade de predição do sucesso de biocontrole. Espécies preditas como alvos de difícil controle ou que habitavam áreas inacessíveis foram endereçadas ao biocontrole com base no fato de serem suficientemente importantes para compensar um possível risco de falhas frente aos maiores benefícios do controle bem-sucedido.

Na África do Sul, o nível de sucesso de programas de controle biológico clássico é estimado com base na redução de métodos alternativos de controle relacionado ao impacto do controle biológico (Klein et al., 2011). A cada programa é atribuído uma categoria previamente estabelecida, as quais são úteis para estimar o sucesso de um grande número de programas de controle de invasoras, muitos dos quais não dispõem de dados de avaliação quantitativa pós-liberação do agente de biocontrole.

É essencial que metas pré-definidas sejam previstas para avaliar o sucesso do biocontrole, considerando que a completa erradicação não é apropriada para o controle biológico (Morin et al., 2009). Embora, muitas vezes, o sucesso do controle biológico possa ser percebido como parcial, incompleto ou falho, é importante considerar a que nível a população invasora chegaria caso o controle biológico não tivesse sido implementado (Wilgen et al., 2004). Agentes de controle que não proporcionam decréscimo visível na população da invasora podem contribuir consideravelmente por meio da redução de incremento, crescimento e dispersão da espécie, o que ressalta a necessidade de avaliações quantitativas pós-liberação, um aspecto do controle biológico ainda negligenciado pela dificuldade de implementação do processo.

DESAFIOS E PERSPECTIVAS

O controle biológico clássico oferece uma série de vantagens, se comparado ao método tradicional, quando a planta invasora é uma espécie exótica, principalmente se ela já está estabelecida e bem distribuída geograficamente na região de introdução.

Seu custo de desenvolvimento e uso é relativamente barato, principalmente se for levado em conta que o controle biológico clássico é ambientalmente seguro, de longa duração e cuja dispersão dos agentes é realizada por meio da sua reprodução nas áreas afetadas (Cuda, 2009).

Há também a possibilidade de se realizar a introdução de um agente de controle por meio da chamada via curta, ou seja, a utilização de inimigos naturais introduzidos previamente em outros países, geralmente artrópodes, e com sucesso comprovado no controle de uma planta-alvo, minimizando o tempo desde a seleção e estudos até a obtenção de resultados práticos a campo. Obviamente, a via curta não pode ser empregada sempre, admitindo-se genericamente que, se funcionou para um determinado ambiente com um ou mais agentes, funcionará para outros ambientes invadidos pela mesma planta. As características ecológicas, edáficas e climáticas, as possíveis alterações na biologia e comportamento do(s) agente(s) selecionado(s), principalmente o conhecimento de seus inimigos naturais, e a confirmação da especificidade são fatores que poderão ser determinantes na aplicação da via curta no novo ambiente.

Apontam-se como desvantagens do controle biológico clássico: (i) incerteza quanto ao estabelecimento e supressão da planta-alvo na área introduzida; (ii) aspectos relacionados à especificidade do agente de biocontrole candidato e (iii) tempo requerido para a obtenção de resultados práticos na região de introdução do agente. Conforme apontado anteriormente, os testes de especificidade são essenciais para esclarecer a ausência de risco na introdução de um agente candidato. Se mal conduzidos, há o risco de o inimigo natural desenvolver-se em plantas não alvo. Por outro lado, o controle imposto pelo agente selecionado não é imediato e pode demandar anos até que a população da planta diminua a níveis aceitáveis.

Na abordagem do controle biológico pela estratégia inundativa, o emprego de patógenos nativos nas áreas onde será realizado o controle garante que os riscos de efeitos à flora local sejam menores. Por outro lado, aspectos epidemiológicos relacionados à manutenção da umidade e temperatura necessárias à infecção e ao desenvolvimento da doença na planta invasora, nem sempre satisfatórios ao patógeno sob condições de campo, são desvantagens dos bio-herbicidas de parte aérea, muitas vezes superadas com o desenvolvimento de formulações adequadas. Vale destacar, no entanto, que as indústrias apresentam, em sua grande maioria, expertise e facilidades para produzir agentes microbiológicos de controle por meio de fermentação líquida, técnica nem sempre adequada para a produção de fungos que não esporulam em cultura submersa.

Outra desvantagem é que o uso dos bio-herbicidas, à semelhança aos herbicidas químicos, leva à crença, por parte dos usuários, de que um único bio-herbicida poderia resolver o controle do espectro de plantas invasoras infestantes do agroecossistema, o que raramente é verdadeiro.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, E. B. Fungi in classical biocontrol of weeds. In: BURGESS, M. N. (Ed.). **Fungi in biological control systems**. Manchester: Manchester University Press, 1988. p. 111-124.
- ADAMS, E. B.; LINE, R. F. Epidemiology and host morphology in the parasitism of Rush Skeletonweed by *Puccinia chondrillina*. **Phytopathology**, v. 74, p. 745-748, Mar. 1984. DOI: 10.1094/Phyto-74-745.
- AHN, B.; PAULITZ, T.; JABAJI-HARE, S.; WATSON, A. K. Enhancement of *Colletotrichum coccodes* virulence by inhibitors of plant defense mechanisms. **Biocontrol Science and Technology**, v. 15, n. 3, p. 299-308, 2005. DOI: 10.1080/09583150400016977.
- ANEJA, K. R.; KUMAR, V.; JILOHA, P.; KAUR, M.; SHARMA, C.; SURAIN, P.; DHIMAN, R.; ANEJA, A. Potential bioherbicides: Indian perspectives. In: SALAR, R. K.; GAHLAWAT, S. K.; SIWACH, P.; DUHAN, J. S. (Ed.). **Biotechnology: prospects and applications**. New Delhi: Springer, 2013. p. 197-215. DOI: 10.1007/978-81-322-1683-4_15.
- AVIO, L.; PELLEGRINO, E.; BONARI, E.; GIOVANNETTI, M. Functional diversity of arbuscular mycorrhizal fungal isolates in relation to extraradical mycelial networks. **New Phytologist**, v. 172, n. 2, p. 347-357, July 2006. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2006.01839.x.
- AYRES, P.; PAUL, N. Weeding with fungi. **New Scientist**, v. 1732, p. 36-39, 1990.
- BAILEY, K. L. Canadian innovations in microbial biopesticides. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 32, n. 2, p. 113-121, 2010. DOI: 10.1080/07060661.2010.484195.
- BAILEY, K. L. The bioherbicide approach to weed control using plant pathogens. In: ABROL, D. P. (Ed.). **Integrated pest management: current concepts and ecological perspectives**. San Diego: Elsevier, 2014. p. 245-266. DOI: 10.1016/B978-0-12-398529-3.00014-2.
- BAILEY, K. L.; FALK, S. Turning research on microbial bioherbicides into commercial products – a *Phoma* story. **Pest Technology**, v. 5, p. 73-79, 2011.
- BALBINOT JÚNIOR, A. A.; FLECK, N. G.; AGOSTINETTO, D.; RIZZARDI, M. A. Predação de sementes de plantas daninhas em áreas cultivadas. **Ciência Rural**, v. 32, n. 4, p. 707-714, ago. 2002. DOI: 10.1590/S0103-84782002000400027.
- BANOWETZ, G. M.; AZEVEDO, M. D.; ARMSTRONG, D. J.; HALGREN, A. B.; MILLS, D. I. Germination-arrest factor (GAF): biological properties of a novel, naturally-occurring herbicide produced by selected isolates of rhizosphere bacteria. **Biological Control**, v. 46, n. 3, p. 380-390, Sept. 2008. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2008.04.016.
- BARRETO, R. W. Controle biológico de plantas daninhas com fitopatógenos. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 101-128.
- BARRETO, R. W. Latin American weed biological control science at the crossroads. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BIOLOGICAL CONTROL OF WEEDS, 12., 2007, La Grande Motte. **Proceedings...** Wallingford: CAB International, 2008. p. 109-121. Edited by M. H. Julien, Rene Sforza, M. C. Bon, H. C. Evans, P. E. Hatcher.
- BARTON, J.; FOWLER, S. V.; GIANOTTI, A. F.; WINKS, C. J.; BEURS, M. de; ARNOLD, G. C.; FORRESTER, G. Successful biological control of mist flower (*Ageratina riparia*) in New Zealand: agent establishment, impact and benefits to the native flora. **Biological Control**, v. 40, n. 3, p. 370-385, Mar. 2007. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2006.09.010.
- BITTENCOURT, H. V. H. **Controle biológico de plantas espontâneas em agroecossistemas**. 2011. 35 f. Monografia (Especialização) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos.

- BLOSSEY, B. Biological control of weeds using arthropods. In: UPADHYAYA, M. K.; BLACKSHAW, R. E. (Ed.). **Non-chemical weed management: principles, concepts and technology**. Wallingford: CAB International, 2007. p. 77-91. DOI: 10.1079/9781845932909.0077.
- BORGES NETO, C. R.; MELLO, S. C. M.; RIBEIRO, Z. M. A.; ÁVILA, Z. R.; MALT, J. S.; FONTES, E. M. G. Influência da idade da planta, período de umidificação e concentração de inóculo no desenvolvimento de sintomas provocados por *Cercospora caricis* em tiririca. **Fitopatologia Brasileira**, v. 25, p. 138-142, 2000.
- BOWERS, R. C. Commercialization of Collego – an industrialist's view. **Weed Science**, v. 34, p. 24-25, 1986. Supplement 1. DOI: 10.1017/S0043174500068326.
- BOYETCHKO, S.; BAILEY, K.; HYNES, R.; PENG, G.; VINCENT, C.; GOETTEL, M.; LAZAROVITS, G. Development of the mycoherbicide, BioMal. In: VINCENT, C.; GOETTEL, M. S.; LAZAROVITS, G. (Ed.). **Biological control: a global perspective**. Wallingford: CAB International, 2007. p. 274-283. DOI: 10.1079/9781845932657.0274.
- BOYETTE, C. D.; ABBAS, H. K.; JOHNSON, B.; HOAGLAND, R. E.; WEAVER, M. A. Biological control of the weed *Sesbania exaltata* using a microsclerotia formulation of the bioherbicide *Colletotrichum truncatum*. **American Journal of Plant Sciences**, v. 5, n. 18, p. 2672-2685, Aug. 2014. DOI: 10.4236/ajps.2014.518282.
- BOYETTE, C. D.; HOAGLAND, R. E. Bioherbicidal potential of *Xanthomonas campestris* for controlling *Conyza canadensis*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 25, n. 2, p. 229-237, 2015. DOI: 10.1080/09583157.2014.966650.
- BRIESE, D. T. Weed biological control: applying the science to solve seemingly intractable problems. **Australian Journal of Entomology**, n. 43, n. 3, p. 304-317, July 2004. DOI: 10.1111/j.1326-6756.2004.00442.x.
- BYRNE, M. J.; CURRIN, S.; HILL, M. P. The influence of climate on the establishment and success of the biocontrol agent *Gratiana spadicæ*, released on *Solanum sisymbriifolium* in South Africa. **Biological Control**, v. 24, n. 2, p. 128-134, June 2002. DOI: 10.1016/S1049-9644(02)00021-X.
- CHARUDATTAN, R. Biological control of weeds by means of plant pathogens: significance for integrated weed management in modern agro-ecology. **BiolControl**, v. 46, n. 2, p. 229-260, June 2001. DOI: 10.1023/A:1011477531101.
- CHARUDATTAN, R. Ecological, practical, and political inputs into selection of weed targets: what makes a good biological control agent? **Biological Control**, v. 35, n. 3, p. 183-196, Dec. 2005. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2005.07.009.
- CHARUDATTAN, R. The mycoherbicide approach with plant pathogens. In: TeBEEST, D. O. (Ed.). **Microbial control of weeds**. Boston: Springer, 1991. p. 24-57. DOI: 10.1007/978-1-4615-9680-6_2.
- CHARUDATTAN, R.; WALKER, H. L.; BOYETTE, C. D.; RIDINGS, W. H.; TeBEEST, D. O.; VAN DYKE, C. G.; WORSHAM, A. D. **Evaluation of *Alternaria cassiae* as a mycoherbicide for sicklepod (*Cassia obtusifolia*) in regional field tests**. Auburn: Auburn University, 1986. 19 p. (Southern cooperative series bulletin, 317).
- CHON, S.-U. Herbicidal activity of δ -aminolevulinic acid on several plants as affected by application methods. **Korean Journal of Crop Science**, v. 48, n. 1, p. 50-55, 2003.
- CHUTIA, M.; MAHANTA, J. J.; BHATTACHARYYA, N.; BHUYAN, M.; BORUAH, P.; SARMA, T. C. Microbial herbicides for weed management: prospect, progress and constrains. **Plant Pathology Journal**, v. 6, n. 3, p. 210-218, 2007. DOI: 10.3923/ppj.2007.210.218.
- CORDEAU, S.; TRIOLET, M.; WAYMAN, S.; STEINBERG, C. Bioherbicides: dead in the water? A review of the existing products for integrated weed management. **Crop Protection**, v. 87, p. 44-49, Sept. 2016. DOI: 10.1016/j.cropro.2016.04.016.

- CUDA, J. P. Introduction to biological control of aquatic weeds. In: GETTYS, L. A.; HALLER, W. T.; BELLAUD, M. **Biology and control of aquatic plants: a best management practices handbook**. [S.l.]: Aquatic Ecosystem Restoration Foundation, 2009. p. 51-58.
- CULLEN, J. M. Bringing the cost benefit analysis of biological control of *Chondrilla juncea* up to date. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BIOLOGICAL CONTROL OF WEEDS, 6., 1985, Vancouver. **Proceedings...** Ottawa: Agriculture Canada, 1985. p. 145-152. DOI: 10.1038/244462a0.
- CULLEN, J. M.; KABLE, P. F.; CATT, M. Epidemic spread of a rust imported for biological control. **Nature**, v. 244, p. 462-464, 1973. DOI: 10.1038/244462a0.
- DAGNO, K.; LAHLALI, R.; DIOURTE, M.; JIJAKLI, M. H. Present status of the development of mycoherbicides against water hyacinth: success and challenges: a review. **Biotechnology, Agronomy and Environment**, v. 16, n. 3, p. 360-368, Aug. 2012.
- DAY, M. D.; WINSTON, R. L. Biological control of weeds in the 22 Pacific island countries and territories: current status and future prospects. **NeoBiota**, v. 30, p. 167-192, 2016. DOI: 10.3897/neobiota.30.7113.
- DeBACH, P. **Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas**. México: Compañía Editorial Continental, 1987. 949 p.
- DIAZ, R.; MANRIQUE, V.; HIBBARD, K.; FOX, A.; RODA, A.; GANDOLFO, D.; MCKAY, F.; MEDAL, J.; HIGHT, S.; OVERHOLT, W. A. Successful biological control of Tropical Soda Apple (*Solanales: Solanaceae*) in Florida: a review of key program components. **Florida Entomologist**, v. 97, n. 1, p. 179-190, Mar. 2014. DOI: 10.1653/024.097.0124.
- DUMAS, M. T.; WOOD, J. E.; MITCHELL, E. G.; BOYONOSKI, N. W. Control of stump sprouting of *Populus tremuloides* and *P. grandidentata* by inoculation with *Chondrostereum purpureum*. **Biological Control**, v. 10, n. 1, p. 37-41, Sept. 1997. DOI: 10.1006/bcon.1997.0507.
- EILENBERG, J.; HAJEK, A.; LOMER, C. Suggestions for unifying the terminology in biological control. **BioControl**, v. 46, n. 4, p. 387-400, Dec. 2001. DOI: 10.1023/A:1014193329979.
- EVANS, H. C. Biological control of weeds with fungi. In: KEMPKIN, F. (Ed.). **The mycota**. 2nd ed. Berlin: Springer-Verlag, 2013. p. 145-172. (Agricultural applications, 11).
- EVANS, H. C. Fungal pathogens of some subtropical and tropical weeds and the possibilities for the biological control. **Biocontrol News and Information**, v. 8, n. 1, p. 7-30, 1987.
- EVANS, H. C. The safe use of fungi for biological control of weeds. **Phytoprotection**, v. 79, p. 67-74, 1998. Supplement.
- EVANS, H. C.; ELLISON, C. A. Classical biological control of weeds with microorganisms: past, present, prospects. **Aspects of Applied Biology**, v. 24, p. 39-49, 1990.
- EVANS, H. C.; GREAVES, M. P.; WATSON, A. K. Fungal biocontrol agents of weeds. In: BUTT, T. M.; JACKSON, C.; MAGAN, N. (Ed.). **Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential**. Wallingford: CABI Publishing, 2001. p. 169-192.
- FONT, M. I.; CÓRDOBA-SELLÉS, M. C.; CEBRIÁN, M. C.; HERRERA-VÁSQUEZ, J. A.; ALFARO-FERNÁNDEZ, A.; BOUBAKER, A.; SOLTANI, I.; JORDÁ, C. First report of *tobacco mild green mosaic virus* infecting *Capsicum annuum* in Tunisia. **Plant Disease**, v. 93, n. 7, p. 761, July 2009. DOI: 10.1094/PDIS-93-7-0761B.
- FOWLER, S. V.; SYRETT, P.; HILL, R. L. Success and safety in the biological control of environmental weeds in New Zealand. **Austral Ecology**, v. 25, n. 5, p. 553-562, Oct. 2000. DOI: 10.1046/j.1442-9993.2000.01075.x.
- FRANCIS, R.; READ, D. J. Mutualism and antagonism in the mycorrhizal symbiosis, with special reference to impacts on plant community structure. **Canadian Journal of Botany**, v. 73, p. 1301-1309, 1995. DOI: 10.1139/b95-391.

GAMALERO, E.; LINGUA, G.; TOMBOLINI, R.; AVIDANO, I.; PIVATO, B.; BERTA, G. Colonization of tomato root seedling by *Pseudomonas fluorescens* 92rkG5: spatio-temporal dynamics, localization, organization, viability, and culturability. **Microbial Ecology**, v. 50, n. 2, p. 289-297, Aug. 2005. DOI: 10.1007/s00248-004-0149-9.

GHOSHEH, H. Z. Constraints in implementing biological weed control: a review. **Weed Biology and Management**, v. 5, n. 3, p. 83-92, Sept. 2005. DOI: 10.1111/j.1445-6664.2005.00163.x.

GIOVANNETTI, M.; TOLOSANO, M.; VOLPE, V.; KOPRIVA, S.; BONFANTE, P. Identification and functional characterization of a sulfate transporter induced by both sulfur starvation and mycorrhiza formation in *Lotus japonicus*. **New Phytologist**, v. 204, n. 3, p. 609-619, Nov. 2014. DOI: 10.1111/nph.12949.

GOEDEN, R. D. Critique and revision of Harris' scoring system for selection of insect agents in biological control of weeds. **Protection Ecology**, v. 5, n. 4, p. 287-301, Dec. 1982.

GRESSEL, J. Herbicides as synergists for mycoherbicides, and vice versa. **Weed Science**, v. 58, n. 3, p. 324-328, Sept. 2010. DOI: 10.1614/WS-09-071.1.

HALLETT, S. G. Where are the bioherbicides? **Weed Science**, v. 53, n. 3, p. 404-415, June 2005. DOI: 10.1614/WS-04-157R2.

HARDING, D. P.; RAZADA, M. N. Controlling weeds with fungi, bacteria and viruses: a review. **Frontiers in Plant Science** 6, Aug. 2015. DOI: 10.3389/fpls.2015.00659.

HARLEY, K. L. S.; FORNO, I. W. **Biological control of weeds: a handbook for practitioners and students**. Melbourne: Inkara Press, 1992. 74 p.

HARRIS, P. The selection of effective agents for the biological control of weeds. **The Canadian Entomologist**, v. 105, n. 12, p. 1495-1503, Dec. 1973. DOI: 10.4039/Ent1051495-12.

HASAN, S. Plant pathogens and biological control of weeds. **Review of Plant Pathology**, v. 59, p. 349-355, 1980.

HASAN, S. Recent advances in the use of plant pathogens as biocontrol agents of weeds. **Pest Articles and News Summaries**, v. 20, n. 4, p. 437-443, 1974. DOI: 10.1080/09670877409418221.

HEIJDEN, M. G. A. van der. Mycorrhizal fungi reduce nutrient loss from model grassland ecosystems. **Ecology**, v. 91, n. 4, p. 1163-1171, 2010. DOI: 10.1890/09-0336.1.

HEIJDEN, M. G. A. van der; RINAUDO, V.; VERBRUGGEN, E.; SCHERRER, C.; BARBERI, P.; GIOVANNETTI, M. The significance of mycorrhizal fungi for crop productivity and ecosystem sustainability in organic farming systems. In: IFOAM ORGANIC WORLD CONGRESS, 16., 2008, Modena. Disponível em: <<http://orgprints.org/view/projects/conference.html>>. Acesso em: 16 ago. 2019.

HÉRAUX, F. M. G.; HALLETT, S. G.; RAGOTHAMA, K. G.; WELLER, S. C. Composted chicken manure as a medium for the production and delivery of *Trichoderma virens* for weed control. **HortScience**, v. 40, n. 5, p. 1394-1397, Aug. 2005a. DOI: 10.21273/HORTSCI.40.5.1394.

HÉRAUX, F. M. G.; HALLETT, S. G.; WELLER, S. C. Combining *Trichoderma virens*-inoculated compost and a rye cover crop for weed control in transplanted vegetables. **Biological Control**, v. 34, n. 1, p. 21-26, July 2005b. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2005.04.003.

HIGHT, S. D.; HORIUCHI, I.; VITORINO, M. D.; WIKLER, C.; PEDROSA-MACEDO, J. H. Biology, host specificity tests, and risk assessment of the sawfly *Heteroperreya hubrichi*, a potential biological control agent of *Schinus terebinthifolius* in Hawaii. **BioControl**, v. 48, n. 4, p. 461-476, 2003. DOI: 10.1023/A:1024734508842.

HINTZ, W. Development of *Chondrostereum purpureum* as a mycoherbicide for deciduous brush control. In: VICENT, C.; GOETTEL, M. S.; LAZAROVITS, G. (Ed.). **Biological control a global perspective**. Wallingford: CAB International, 2007. p. 284-290. DOI: 10.1079/9781845932657.0284.

- HOELMER, K. A.; KIRK, A. A. Selecting arthropod biological control agents against arthropod pests: can the science be improved to decrease the risk of releasing ineffective agents? **Biological Control**, v. 34, n. 3, p. 255-264, Sept. 2005. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2005.05.001.
- HOWELL, C. R.; STIPANOVIC, R. D. Phytotoxicity to crop plants and herbicidal effects on weeds of viridiol produced by *Gliocladium virens*. **Phytopathology**, v. 74, p. 1346-1349, 1984. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2005.05.001.
- HUFFAKER, C. B. An overview of biological control, with particular commentary on biological weed control. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BIOLOGICAL CONTROL OF WEEDS, 4., 1976, Gainesville. **Proceedings**... Gainesville: University of Florida, 1976. p. 3-10.
- IMAIZUMI, S.; NISHINO, T.; MIYABE, K.; FUJIMORI, T.; YAMADA, M. Biological control of annual bluegrass (*Poa annua* L.) with a Japanese isolate of *Xanthomonas campestris* pv. *poae* (JT-P482). **Biological Control**, v. 8, n. 1, p. 7-14, Jan. 1997. DOI: 10.1006/bcon.1996.0475.
- JAVAID, A.; ALI, S. Alternative management of a problematic weed of wheat *Avena fatua* L. by metabolites of *Trichoderma*. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 71, n. 2, p. 205-211, June 2011. DOI: 10.4067/S0718-58392011000200004.
- JOHNSON, M. T. **Petition for field release of *Tectococcus ovatus* (Homoptera: Eriococcidae) for classical biological control of strawberry guava, *Psidium cattleianum* Sabine (Myrtaceae)**. 2005. Disponível em: <http://www.fs.fed.us/psw/topics/ecosystem/processes_tropical/invasive/>. Acesso em: 20 ago. 2019.
- JORDAN, N. R.; ZHANG, J.; HUERD, S. Arbuscular-mycorrhizal fungi: potential roles in weed management. **Weed Research**, v. 40, n. 5, p. 397-410, Oct. 2000. DOI: 10.1046/j.1365-3180.2000.00207.x.
- JORDAN, N.; HUERD, S. Effects of soil fungi on weed communities in a corn-soybean rotation. **Renewable Agriculture and Food Systems**, v. 23, n. 2, p. 108-117, June 2008. DOI: 10.1017/S1742170508002226.
- JULIEN, M. H. (Ed.). **Biological control of weeds: a world catalogue of agents and their target weeds**. 3rd ed. Wallingford: CAB International: Australian Centre for International agricultural Research, 1992. 186 p.
- JULIEN, M. H.; WHITE, G. **Biological control of weeds: theory and practical application**. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, 1997. 192 p. (ACIAR monograph, 49).
- JULIEN, M.; GRIFFITHS, M. W. **Biological control of weeds: a world catalogue of agents and their target weeds**. Wallingford: CABI Publishing, 1998.
- KABALUK, J. T.; SVIRCEV, A. M.; GOETTEL, M. S.; STEPHANIE, G. W. (Ed.). **The use and regulation of microbial pesticides in representative jurisdictions worldwide**. [S.l.]: International Organization for Biological Control of Noxious Animals and Plants, 2010. 99 p. Available at: <www.IOBC-Global.org>. Acesso em: 16 ago. 2019.
- KAZINCZI, G.; LUKACS, D.; TAKÁCS, A.; HORVÁTH, J.; GÁBORJÁNYI, R.; NÁDASY, M.; IHÁROSI, E. N. Biological decline of *Solanum nigrum* due to virus infections. **Journal of Plant Diseases and Protection**, p. 325-330, 2006.
- KENNEY, D. S. DeVine – the way it was developed – an industrialists view. **Weed Science**, v. 34, p. 15-16, 1986. Supplement 1. DOI: 10.1017/S0043174500068302.
- KLEIN, H.; HILL, M. P.; ZACHARIADES, C.; ZIMMERMANN, H. G. Regulation and risk assessment for importations and releases of biological control agents against invasive alien plants in south Africa. **African Entomology**, v. 19, p. 488-497, 2011. DOI: 10.4001/003.019.0215.

- KREMER, R. J.; KENNEDY, A. C. Rhizobacteria as biocontrol agents of weeds. **Weed Technology**, v. 10, n. 3, p. 601-609, Sept. 1996. DOI: 10.1017/S0890037X00040525.
- LANDIS, D. A.; WRATTEN, S. D.; GURR, G. M. Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. **Annual Review of Entomology**, v. 45, p. 175-201, 2000. DOI: 10.1146/annurev.ento.45.1.175.
- LI, J.; KREMER, R. J. Growth response of weed and crop seedlings to deleterious rhizobacteria. **Biological Control**, v. 39, n. 1, p. 58-65, Oct. 2006. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2006.04.016.
- LI, J.; KREMER, R. J. Rhizobacteria associated with weed seedlings in different cropping systems. **Weed Science**, v. 48, n. 6, p. 734-741, Dec. 2000. DOI: 10.1614/0043-1745(2000)048[0734:RAWWSI]2.0.CO;2.
- LI, M.; JORDAN, N. R.; KOIDE, R. T.; YANNARELL, A. C. Meta-analysis of crop and weed growth responses to arbuscular mycorrhizal fungi: implications for integrated weed management. **Weed Science**, v. 64, n. 4, p. 642-652, Dec. 2016. DOI: 10.1614/WS-D-16-00050.1.
- LIU, S.; ZHANG, G.; LI, X.; ZHANG, J. Microbial production and applications of 5-aminolevulinic acid. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 98, n. 17, p. 7349-7357, Sept. 2014. DOI: 10.1007/s00253-014-5925-y.
- LOUDA, S. M.; PEMBERTON, R. W.; JOHNSON, M. T.; FOLLETT, P. A. Nontarget effects – the Achilles' heel of biological control? Retrospective analysis to reduce risk associated with biocontrol introductions. **Annual Review of Entomology**, v. 48, p. 365-396, 2003. DOI: 10.1146/annurev.ento.48.060402.102800.
- McFADYEN, R. E. C. Biological control of weeds. **Annual Review of Entomology**, v. 3, p. 369-393, 1998. DOI: 10.1146/annurev.ento.43.1.369.
- McFADYEN, R. E. C.; WILLSON, B. A history of biological control of weeds. In: JULIEN, M.; WHITE, G. (Ed.). **Biological control of weeds: theory and practical applications**. Canberra: Aciar, 1997. p. 17-22.
- MEDAL, J. C.; VITORINO, M. D.; HABECK, D. H.; GILMORE, J. L.; PEDROSA, J. H.; DE SOUSA, L. P. Host specificity of *Heteroperreya hubrichi* malaise (Hymenoptera: Pergidae), a potential biological control agent of Brazilian peppertree (*Schinus terebinthifolius*) Raddi. **Biological Control**, v. 14, n. 1, p. 60-65, Jan. 1999. DOI: 10.1006/bcon.1998.0670.
- MELLO, S. C. M. de. Desenvolvimento de fungos como bioherbicidas para o controle de *Senna obtusifolia* e *Cyperus rotundus*. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 6., 1998, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 1998. p. 198-204. VI Siconbiol.
- MELLO, S. C. M. de; ÀVILA, Z. R. de; ESTELLES, R. S. **Efeitos da idade da planta, concentração de inóculo e período úmido no controle de *Senna obtusifolia* por *Alternaria cassiae***. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2003. 4 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Comunicado técnico, 84).
- MELLO, S. C. M. de; TEIXEIRA, E. A.; BORGES NETO, C. R. **Fungos e seus metabólitos no controle da tiririca**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2003. 55 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos, 104).
- MELLO, S. C. M.; RIBEIRO, Z. M. A. Fitopatógenos como agentes de controle de plantas daninhas. In: MELLO, I. S. de; AZEVEDO, J. L. de (Ed.). **Controle biológico**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1998. p. 97-128.
- MORAN, V. C.; HOFFMANN, J. H.; ZIMMERMANN, H. G. Biological control of invasive alien plants in South Africa: necessity, circumspection and success. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 3, n. 2, p. 77-83, Mar. 2005. DOI: 10.2307/3868513.
- MORIN, L.; RED, A. M.; SIMS-CHILTON, N. M.; BUCLEY, Y. M.; DHILEEPAN, K.; HASTWELL, G. T.; NORDBLOM, T. L.; RAGHU, S. Review of approaches to evaluate the effectiveness of weed biological control agents. **Biological Control**, v. 51, n. 1, p. 1-15, Oct. 2009. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2009.05.017.

MORRIS, M. J.; WOOD, A. R.; BREEÏEN, A. den. Plant pathogens and biological control of weeds in South Africa: a review of projects and progress during the last decade. **African Entomology Memoir**, v. 1, p. 129-137, 1999.

NEWMAN, R. M.; THOMPSON, D. C.; RICHMAN, D. B. Conservation strategies for the biological control of weeds. In: BARBOSA, P. (Ed.). **Conservation biological control**. San Diego: Academic Press, 1998. p. 371-396. DOI: 10.1016/B978-012078147-8/50066-9.

NISHINO, J.; TATENO, A. Camperico: a new bioherbicide for annual bluegrass in turf. **Agrochemicals Japan**, n. 77, p. 13-16, Dec. 2000.

OKOLI, C. A. N.; SHILLING, D. G.; SMITH, R. L.; BEWICK, T. A. Genetic diversity in purple nutsedge (*Cyperus rotundus* L.) and yellow nutsedge (*Cyperus esculentus* L.). **Biological Control**, v. 8, n. 2, p. 111-118, Feb. 1997. DOI: 10.1006/bcon.1996.0490.

OWEN, A.; ZDOR, R. Effect of cyanogenic rhizobacteria on the growth of velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) and corn (*Zea mays*) in autoclaved soil and the influence of supplemental glycine. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, n. 6, p. 801-809, May 2001. DOI: 10.1016/S0038-0717(00)00228-5.

PACANOSKI, Z. Bioherbicides. In: PRICE, A. (Ed.). **Herbicides, physiology of action, and safety**. London: Intech Open Science, 2015. p. 254-274. DOI: 10.5772/61528.

PARK, J.-M.; RADHAKRISHNAN, R.; KANG, S.-M.; LEE, I.-N. IAA producing *Enterobacter* sp. I-3 as a potent bio-herbicide candidate for weed control: a special reference with lettuce growth inhibition. **Indian Journal of Microbiology**, v. 55, n. 2, p. 207-212, June 2015. DOI: 10.1007/s12088-015-0515-y.

PARKER, P. E. Nematodes as biological control agents of weeds. In: TeBEEST, D. O. (Ed.). **Microbial control of weeds**. New York: Chapman and Hall, 1991. p. 58-68. DOI: 10.1007/978-1-4615-9680-6_3.

PATERSON, I. D.; HOFFMANN, J. H.; KLEIN, H.; MATHENGE, C. W.; NESER, S.; ZIMMERMANN, H. G. Biological control of Cactaceae in South Africa. **African Entomology**, v. 19, n. 2, p. 230-246, Aug. 2011. DOI: 10.4001/003.019.0221.

PATERSON, I. D.; MDODANA, L. A.; MPEKULA, O.; MABUNDA, B. D. X.; HILL, M. P. A promising biological control agent for the invasive alien plant, *Pereskia aculeata* Miller (Cactaceae), in South Africa. **Biocontrol Science and Technology**, v. 24, n. 10, p. 1083-1095, 2014a. DOI: 10.1080/09583157.2014.919439.

PATERSON, I. D.; VITORINO, M. D.; CRISTO, S. C. de; MARTIN, G. D.; HILL, M. P. Prioritisation of potential agents for the biological control of the invasive alien weed, *Pereskia aculeata* (Cactaceae), in South Africa. **Biocontrol Science and Technology**, v. 24, n. 4, p. 407-425, 2014b. DOI: 10.1080/09583157.2013.864382.

PAYNTER, Q.; OVERTON, J. M.; HILL, R. L.; BELLGARD, S. E.; DAWSON, M. I. Plant traits predict the success of weed biocontrol. **Journal of Applied Ecology**, v. 49, n. 5, p. 1140-1148, Oct. 2012. DOI: 10.1111/j.1365-2664.2012.02178.x.

PEDROSA-MACEDO, J. H.; BREDOW, E. A. (Ed.). **Princípios e rudimentos do controle biológico de plantas**: coletânea. Curitiba: [s.n.], 2004. 197 p.

PESCHEN, D. P.; McCLAY, A. S. Picking the target: a revision of McClay's scoring system to determine the suitability of a weed for classical biological control. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BIOLOGICAL CONTROL OF WEEDS, 8., 1995, Canterbury. **Proceedings...** Melbourne: DSIR/CSIRO, 1995. p. 137-143.

PHATAK, S. C. Development and commercialization of rust (*Puccinia canaliculata*) for biological control of yellow nutsedge (*Cyperus esculentus* L.). In: INTERNATIONAL WEED CONTROL CONGRESS, 1., 1992, Melbourne. **Proceedings...** [S.I.]: Weed Science Society of Victoria, 1992. v. 2, p. 388-390.

- PHATAK, S. C.; WELLS, H. D.; SUMNER, D. R.; BELL, D. K.; GLAZE, N. C. Rust (*Puccinia canaliculata*) suppress flowering and tuber formation in yellow nutsedge (*Cyperus esculentus* L.). **Weed Science Society of America Meetings Abstracts**, p. 68, 1982.
- RADOSEVICH, S. R.; HOLT, J. S.; GHERSA, C. **Ecology of weeds and invasive plants**: relationship to agriculture and natural resource management. 3rd ed. New York: Wiley, 2007. 472 p. DOI: 10.1002/9780470168943.
- RAKIAN, T. C.; KARIMUNA, L.; TAUFİK, M.; SUTARIATI, G. A. K.; MUHIDIN, M.; PASOLON, Y. B. The effectiveness of rhizobacteria as bioherbicide to control of weed. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 9, p. 707-711, Sept. 2015.
- RAKIAN, T. C.; KARIMUNA, L.; TAUFİK, M.; SUTARIATI, G. A. K.; MUHIDIN; FERMIN, U. The effectiveness of various rhizobacteria carriers to improve the shelf life and the stability of rhizobacteria as bioherbicide. Proceeding of International Conference on Agriculture, Environment, and Food Security (AEFS, 2017). **IOP Conference Series: Earth environmental science**, v. 122, 2018. 7 p. DOI: 10.1088/1755-1315/122/1/012032.
- RIBEIRO, Z. M. A.; MELLO, S. C. M.; FURLANELLO, C.; FIGUEIREDO, G. de; FONTES, E. M. G. Characteristics of *Cercospora caricis*, a potential biocontrol agent of *Cyperus rotundus*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 22, n. 4, p. 513-519, dez. 1997.
- RILLIG, M. C.; MUMMEY, D. L. Mycorrhizas and soil structure. **New Phytologist**, v. 171, n. 1, p. 41-53, May 2006. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2006.01750.x.
- RINAUDO, V.; BÀRBERI, P.; GIOVANNETTI, M.; HEIHEDEN, M. G. A. van der. Mycorrhizal fungi suppress aggressive agricultural weeds. **Plant and Soil**, v. 333, n. 1-2, p. 7-20, Aug. 2010. DOI: 10.1007/s11104-009-0202-z.
- ROBINSON, A. F.; ORR, C. C.; ABERNATHY, J. R. Distribution of *Nothanguina phyllobia* and its potential control agent for silver-leaf nightshade. **Journal of Nematology**, v. 10, n. 4, p. 362-366, Oct. 1978.
- RODRIGUEZ, D. P.; NACHTIGAL, G. de F.; LIMA, D. L.; ZIBETTI, V. K. Avaliação in vitro da atividade fitotóxica de isolados do fungo *Trichoderma virens*. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE EDUCAÇÃO E PESQUISA EM ECOLOGIA, 3., 2012, Pelotas. **Anais...** Pelotas: Universidade Católica de Pelotas, 2012. 1 CD-ROM.
- SAMWAYS, M. J. **Control biológico de plagas y malas hierbas**. Barcelona: Oikos-Tau, 1990. 88 p.
- SARAF, M.; PANDYA, U.; THAKKAR, A. Role of allelochemicals in plant growth promoting rhizobacteria for biocontrol of phytopathogens. **Microbiological Research**, v. 169, n. 1, p. 18-29, Jan. 2014. DOI: 10.1016/j.micres.2013.08.009.
- SAYED, M. H. E.; AZIZ, Z. K. A.; ABOUZOID, A. M. Efficacy of extracellular metabolite produced by *Streptomyces levis* strain LX-65 as a potential herbicidal agent. **Journal of American Science**, v. 10, n. 11, p. 169-180, 2014.
- SCHEUBLIN, T. R.; LOGTESTIJN, R. S. P. van; HEIJDEN, M. G. A. van der. Presence and identity of arbuscular mycorrhizal fungi influence competitive interactions between plant species. **Journal of Ecology**, v. 95, n. 4, p. 631-638, July 2007. DOI: 10.1111/j.1365-2745.2007.01244.x.
- SCHOONHOVEN, L. M.; VAN LOON, J. J.; DICKE, M. **Insect-plant biology**. 2nd ed. Oxford: Oxford University Press, 2005. 421 p.
- SCHOWALTER, T. D. **Insect ecology**: an ecosystem approach. 2nd ed. San Diego: Elsevier, 2006. 572 p. DOI: 10.1016/B978-0-12-088772-9.X5022-5.
- SEIXAS, C. D. S.; BARRETO, R. W.; FREITAS, L. G.; MAFFIA, L. A.; MONTEIRO, F. T. *Ditylenchus drepanocercus* (Nematoda), a potential biological control agent for *Miconia calvescens* (Melastomataceae): host-

specificity and epidemiology. **Biological Control**, v. 31, n. 1, p. 29-37, Aug. 2004a.

DOI: 10.1016/j.biocontrol.2004.05.002.

SEIXAS, C. D. S.; BARRETO, R. W.; FREITAS, L. G.; MONTEIRO, F. T.; OLIVEIRA, R. D. L. *Ditylenchus drepanocercus* rediscovered in the neotropics causing angular leaf spots in *Miconia calvescens*.

Journal of Nematology, v. 36, n. 4, p. 481-486, Dec. 2004b.

SEIXAS, C. D. S.; BARRETO, R. W.; KILLGORE, E. Fungal pathogens of *Miconia calvescens* (Melastomataceae) from Brazil, with reference to classical biological control. **Mycologia**, v. 99, n. 1, p. 99-111, 2007. DOI: 10.1080/15572536.2007.11832605.

SHAMOUN, S. F.; HINTZ, W. E. Development and registration of *Chondrostereum purpureum* as a mycoherbicide for hardwood weeds in conifer reforestation sites and utility rights-of-way. In: INTERNATIONAL BIOHERBICIDES WORKSHOP, 4., 1998, Glasgow. **Programme and abstracts...** Glasgow: University of Strathclyde, 1998. p. 14.

SHEA, K.; KELLY, D.; SHEPPARD, A. W.; WOODBURN, T. Context-dependent biological control of an invasive thistle. **Ecology**, v. 86, n. 12, p. 3174-3181, Dec. 2005. DOI: 10.1890/05-0195.

SHEPPARD, A. W.; HILL, R.; DeCLERCK-FLOATE, R. A.; McCLAY, A.; OLCKERS, T.; QUIMBY JUNIOR, P. C.; ZIMMERMANN, H. G. A global review of risk-benefit-cost analysis for the introduction of classical biological control agents against weeds: a crisis in the making? **Biocontrol News and Information**, v. 24, n. 3, p. 91-108, 2003.

SIKES, B. A.; KOTTENIE, K.; KLIRONOMOS, J. N. Plant and fungal identity determines pathogens protection of plant roots by arbuscular mycorrhizas. **Journal of Ecology**, v. 97, n. 6, p. 1274-1280, Nov. 2009. DOI: 10.1111/j.1365-2745.2009.01557.x.

SOARES, D. J.; BARRETO, R. W. Fungal pathogens of the invasive riparian weed *Hedychium coronarium* from Brazil and their potential for biological control. **Fungal Diversity**, v. 28, p. 85-96, Jan. 2008. DOI: 10.1071/DN08034.

STEWART-WADE, S. M.; GREEN, S.; BOLAND, G. J.; TESHLE, M. P.; TESHLE, I. B.; WATSON, A. K.; SAMPSON, M. G.; PATTERSON, K.; DI TOMMASO, A.; DUPONT, S. *Taraxacum officinale* (Weber), Dandelion (Asteraceae). In: MASON, P. G.; HUBER, J. T. (Ed.). **Biological control programs in Canada**. [SI.]: CABI International, 2002. p. 1981-2000.

TE BEEST, D. O. Biological control of weeds with microbial herbicides. **Fitopatologia Brasileira**, v. 9, n. 3, p. 443-453, 1984.

TE BEEST, D. O.; YANG, X. B.; CISAR, C. R. The status of biological control of weeds with fungal pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, v. 30, p. 637-657, 1992. DOI: 10.1146/annurev.py.30.090192.003225.

TEIXEIRA, E. A.; MELLO, S. C. M.; PEREIRA, W. C.; CORDEIRO, C. M. T. **Suscetibilidade de acessos de tiririca a dois isolados de *Cercospora caricis*, visando o seu uso no controle biológico**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2001. 16 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 10).

TEMPLETON, G. E. Status of weed control with plant pathogens. In: CHARUDATTAN, R.; WALKER, H. L. (Ed.). **Biological control of weeds with plant pathogens**. New York: John Wiley & Sons, 1982. p. 29-44.

TEMPLETON, G. E. Use of *Colletotrichum* strains as mycoherbicides. In: BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. (Ed.). **Colletotrichum: biology, pathology and control**. Wallingford: CAB International, 1992. p. 358-380.

TEMPLETON, G. E.; GREAVES, M. P. Biological control of weeds with fungal pathogens. **Tropical Pest Management**, v. 30, n. 4, p. 333-338, 1984. DOI: 10.1080/09670878409370907.

TESSMANN, D. J. Controle biológico: aplicações na área de ciência das plantas daninhas. In: OLIVEIRA JÚNIOR, R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. (Ed.). **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba: Omnipax, 2011. p. 69-93.

THRALL, P. H.; HOCHBERG, M. E.; BURDON, J. J.; BEVER, J. D. Coevolution of symbiotic mutualists and parasites in a community context. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 22, n. 3, p. 120-126, Mar. 2007. DOI: 10.1080/09670878409370907.

TRUJILLO, E. E. History and success of plant pathogens for biological control of introduced weeds in Hawaii. **Biological Control**, v. 33, n. 1, p. 113-122, Apr. 2005. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2004.11.008.

VAN KLINKEN, R. D.; RAGHU, S. A scientific approach to agent selection. **Australian Journal of Entomology**, v. 45, n. 4, p. 253-258, Nov. 2006. DOI: 10.1111/j.1440-6055.2006.00547.x.

VATOVEC, C.; JORDAN, N.; HUERD, S. Responsiveness of certain agronomic weed species to arbuscular mycorrhizal fungi. **Renewable Agriculture and Food Systems**, v. 20, n. 3, p. 181-189, Sept. 2005. DOI: 10.1079/RAF2005115.

VITORINO, M. D. **Aspectos biológicos e testes de especificidade e de reprodução com *Heteroperreya hubrichi* Malaise, 1955 (Hymenoptera, Pergidae) para o controle biológico da aroeira, *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) no estado da Flórida – EUA**. 2001. 110 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

VITORINO, M. D.; PEDROSA-MACEDO, J. H.; MENEZES JUNIOR, A. O. **Proposta de plano de manejo para a espécie *Tecoma stans* (Bignoniaceae) – amarelinho no sul do Brasil**. [S.l.: s.n.], 2004. Relatório final de atividades – Projeto Amarelinho – PROBIO.

VITORINO, M. D.; PEDROSA-MACEDO, J. H.; SMITH, C. W. The biology of *Tectococcus ovatus* Hempel (Heteroptera: Euriococcidae) and its potential as a biocontrol agent of *Psidium cattleianum* (Myrtaceae). In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BIOLOGICAL CONTROL OF WEEDS, 10., 1999, Bozeman. **Proceedings...** Bozeman: Montana State University, 2000. p. 651-657.

WAGNER, M.; MITSCHUNAS, N. Fungal effects on seed bank persistence and potential applications in weed biocontrol: a review. **Basic and Applied Ecology**, v. 9, n. 3, p. 191-203, May 2008. DOI: 10.1016/j.baae.2007.02.003.

WAPSHERE, A. J. Biological control of weeds. In: HOLZNER, W.; NUMATA, M. (Ed.). **Biology and ecology of weeds**. Dordrecht: Springer, 1982. p. 47-56. DOI: 10.1007/978-94-017-0916-3_4.

WAPSHERE, A. J. Prospects for the biological control of silver-leaf nightshade, *Solanum elaeagnifolium*, in Australia. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 39, n. 2, p. 187-197, 1988. DOI: 10.1071/AR9880187.

WATERHOUSE, D. F. W.; NORRIS, K. R. **Biological control pacific prospects**. Melbourne: Inkata Press, 1987.

WATSON, A. K. Biology of *Subanguina picridis*, a potential biological control agent of Russian Knapweed. **Journal of Nematology**, v. 18, n. 2, p. 149-154, Apr. 1986.

WATSON, A. K. The classical approach with plant pathogens. In: TeBEEST, D. (Ed.). **Microbial control of weeds**. New York: Chapman and Hall, 1991. p. 3-23. DOI: 10.1007/978-1-4615-9680-6_1.

WESSELS, F. J.; WESSELS, F. J.; CUDA, J. P.; JOHNSON, M. T.; PEDROSA-MACEDO, J. H. Host specificity of *Tectococcus ovatus* (Hemiptera: Euriococcidae), a potential biological control agent of the invasive strawberry guava, *Psidium cattleianum* (Myrtales: Myrtaceae), in Florida. **BioControl**, v. 52, n. 4, p. 439-449, Aug. 2007. DOI: 10.1007/s10526-006-9043-3.

WESTERMAN, P. R.; BORZA, J. K.; ANDJELKOVIC, J.; LIEBMAN, M.; DANIELSON, B. Density-dependent predation of weed seeds in maize fields. **Journal of Applied Ecology**, v. 45, n. 6, p. 1612-1620, Dec. 2008. DOI: 10.1111/j.1365-2664.2008.01481.x.

WHEELER, G. S.; Mc KAY, F.; VITORINO, M. D.; MANRIQUE, V.; DIAZ, R.; OVERHOLT, W. Biological control of the invasive weed *Schinus terebinthifolia* (Brazilian Peppertree): a review of the project with an update on the proposed agents. **Southeastern Naturalist**, v. 15, p. 15-34, 2016. DOI: 10.1656/058.015.sp802.

WHITE, S. S.; RENNER, K. A.; MENALLED, F. D.; LANDIS, D. A. Feeding preferences of weed seed predators and effect on weed emergence. **Weed Science**, v. 55, n. 6, p. 606-612, Dec. 2007. DOI: 10.1614/WS-06-162.1.

WILGEN, B. W. van; WIT, M. P. de; ANDERSON, H. J.; LE MAITRE, D. C.; KOTZE, I. M.; NDALA, S.; BROWN, B.; RAPHOLO, M. B. Costs and benefits of biological control of invasive alien plants: case studies from south Africa. **South African Journal of Science**, v. 100, p. 113-122, Jan./Feb. 2004.

WINSTON, R. L.; SCHWARZLÄNDER, M.; HINZ, H. L.; DAY, M. D.; COCK, M. J. W.; JULIEN, M. H. (Ed.). **Biological control of weeds: a world catalogue of agents and their target weeds**. 5th ed. Morgantown: USDA Forest Service, Forest Health Technology Enterprise Team, 2014. 838 p.

YORINORI, J. T. Biological control of milk weed (*Euphorbia heterophylla*) with pathogenic fungi. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BIOLOGICAL CONTROL OF WEEDS, 6., 1984, Vancouver. **Proceedings...** Ottawa: Agriculture Canada, 1985. p. 677-681.

ZIMMERMANN, H. G.; MORAN, V. C.; HOFFMANN, J. H. Invasive cactus species (Cactaceae). In: MUNIAPPAN, R.; REDDY, G. V. P.; RAMAN, A. (Ed.). **Biological control of tropical weeds using arthropods**. Cambridge: Cambridge University Press, 2009. p. 108-129.

CAPÍTULO 12

Controle de nematoides fitoparasitas

Regina Maria Dechechi Gomes Carneiro

Thalita Suelen Avelar Monteiro

Bárbara Eckstein

Leandro Grassi de Freitas

Em diferentes agroecossistemas, microrganismos antagonistas a nematoides fitoparasitas, como muitos fungos e bactérias, são importantes para a redução e/ou manutenção das populações desses nematoides em níveis constantemente baixos, considerados toleráveis, seja por ação direta sobre esses fitonematoides ou efeito indireto sobre as suas plantas hospedeiras. Muitos trabalhos, e mesmo revisões, sobre agentes do controle microbiano de nematoides já foram publicados como, por exemplo, Stirling (2011), Dallemole-Giaretta et al. (2012), Jang et al. (2016), Medeiros et al. (2017) e Xiang et al. (2017), dispondo-se, hoje, de literatura apreciável a respeito do tema.

É oportuno ressaltar, todavia, que, apesar de tantos anos de extensivas pesquisas, o uso do biocontrole no manejo de nematoides fitoparasitas é, ainda, pouco representativo. Em razão do potencial já evidenciado por alguns microrganismos para o biocontrole e para uso em larga escala, contamos, atualmente, com uma quantidade relevante de produtos disponíveis no mercado nacional.

Os agentes de biocontrole são onipresentes no ecossistema do solo e, da atuação deles, pode resultar efeito que varia de desprezível até a completa supressão dos nematoides (Hallmann et al., 2009). Quando determinados solos impedem o desenvolvimento da doença, mesmo na presença da planta hospedeira do patógeno, e de condições ambientais propícias, são denominados supressivos. Essa supressão tem

sido realizada por espectro diversificado de microrganismos, em especial por certos grupos de fungos e bactérias.

Neste capítulo, a importância desses patógenos microbianos – bactérias e fungos – no manejo integrado de fitonematoides será abordada, com ênfase ao uso no biocontrole dos chamados nematoides-das-galhas, do gênero *Meloidogyne* Goeldi, 1892, tidos como os mais prejudiciais às culturas de interesse econômico em todo o mundo. Em vista desse enfoque, para melhor acompanhamento geral do texto, alguns subsídios básicos fundamentais sobre as espécies de *Meloidogyne* serão fornecidos inicialmente, no item subsequente e em suas subdivisões.

CARACTERÍSTICAS BÁSICAS DOS NEMATOIDES-DAS-GALHAS

Importância econômica e identificação das espécies

O gênero *Meloidogyne* constitui o mais importante grupo de nematoides fitoparasitas em todo o mundo, em razão de sua larga distribuição, ampla gama de hospedeiros e danos severos que causam às principais culturas de importância econômica. Suas espécies representam grande ameaça à produção agrícola em escala mundial, com perdas estimadas em cerca de 157 bilhões de dólares por ano (Abad et al., 2008). No Brasil, constituem fator limitante à produtividade agrícola de café (*Coffea* sp.), cana-de-açúcar (*Saccharum* sp.) e soja (*Glycine max*), além de fruteiras e olerícolas, entre outras culturas (Moens et al., 2009).

O gênero compreende hoje mais de uma centena de espécies, sendo quatro delas – *Meloidogyne arenaria*, *Meloidogyne hapla*, *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne javanica* – as mais conhecidas e estudadas (Taylor; Sasser, 1983; Hunt; Handoo, 2009). A identificação dessas espécies é baseada, sobretudo, em características morfológicas de fêmeas, machos e juvenis de segundo estágio. Informações sobre a gama de hospedeiros ou especificidade parasitária são também incluídas nas descrições de várias espécies. Variações morfológicas, inter e intraespecíficas, tornam a identificação muitas vezes difícil e uma tarefa árdua, mesmo para experientes taxonomistas e, por isso, vem sendo feita utilizando-se a eletroforese de isoenzimas (Carneiro et al., 2000). A identificação ao nível de espécie é requisito importante para a utilização de alguns agentes de controle biológico, como a bactéria *Pasteuria penetrans*, que apresenta especificidade em relação ao hospedeiro (Carneiro et al., 2004).

Ciclo de vida e relação parasita-hospedeiro

O conhecimento do ciclo de vida do nematoide-alvo é de extrema importância para a escolha do agente de controle biológico adequado. Os nematoides-das-galhas são endoparasitas sedentários e cada fêmea produz em média 400 a 500 ovos, mantidos agregados no interior de matriz gelatinosa usualmente denominada massa de ovos, observada, na maioria das vezes, externamente à raiz, mas podendo também ocorrer internamente, no parênquima cortical. Esse contato da massa de ovos com o solo pode ser importante no caso dos fungos parasitas de ovos, que colonizam o solo, a superfície da raiz e, a seguir, a matriz gelatinosa. Após o desenvolvimento embrionário, o juvenil de primeiro estágio (J1) passa pela primeira ecdise ainda dentro do ovo, dando origem ao juvenil de segundo estágio (J2), que eclode do ovo por força mecânica exercida por seu estilete e também pela ação de quitinases produzidas nas glândulas esofagianas e liberadas através do estilete (Abad et al., 2009).

Ao migrar para o solo, o J2, que é a fase infectante, locomove-se em direção às raízes para se alimentar, guiado pelos exsudatos radiculares das plantas. Com auxílio das enzimas degradadoras de parede celular vegetal, penetra na ponta da raiz, logo após a coifa, migrando intercelularmente até atingir a região do parênquima vascular, onde estabelece sítio de alimentação, ou seja, induz a formação de células gigantes multinucleadas através da injeção de secreções provenientes das glândulas esofagianas (Taylor; Sasser, 1983). O nematoide ingere o conteúdo citoplasmático das células gigantes, que previamente absorveram nutrientes do xilema e do floema, atuando assim como drenos metabólicos, desviando nutrientes da planta para o proveito próprio. A injeção de secreções leva à hipertrofia e à hiperplasia de células situadas no entorno do corpo do J2, eventos geralmente acompanhados pelo alargamento das raízes dos quais resulta a formação das galhas (Moens et al., 2009). Durante esse processo, o juvenil tem a largura de seu corpo expandida e passa por novas ecdises com formação dos estádios J3 e J4, e, finalmente, dos adultos (fêmea ou macho).

Quando há boas condições ao desenvolvimento do nematoide, na maioria das vezes originam-se fêmeas (Eisenback; Triantaphyllou, 1991). Sob condições adversas, no entanto, como numa superpopulação de nematoides na raiz ou por expressão de mecanismo de resistência pela planta hospedeira, é comum que os juvenis femininos originem machos, pois o primórdio sexual se desenvolve em testículos em vez de ovários. Quando isso acontece nos estádios iniciais de desenvolvimento, o macho atípico formado possui duas gônadas e o fenômeno é conhecido por reversão sexual (Freitas et al., 2006). Quando ocorre no final do desenvolvimento, os espécimes gerados apresentam tanto estruturas de macho (espículos) como de fêmea (vulva),

sendo referidos como intersexos. Não há acasalamento nas espécies partenogenéticas, permanecendo os machos no solo até a morte (Eisenback; Triantaphyllou, 1991).

A duração do ciclo de vida é fortemente afetada pela temperatura, umidade e planta hospedeira. Como exemplo da influência da temperatura, *Meloidogyne ethiopica* necessitou de 67, 48 e 36 dias para completar um ciclo de reprodução em temperaturas médias diárias de 18,3 °C, 22,7 °C e 26,3 °C, respectivamente, e não houve reprodução a 13,9 °C (Strajnar et al., 2011). Fêmeas de *Meloidogyne* produzem ovos por três semanas e, depois desse tempo, cessam a produção, podendo viver um pouco mais. Machos vivem algumas semanas e J2s de poucos dias a meses (Taylor; Sasser, 1983).

Reduções das populações dos nematoides-das-galhas podem ser alcançadas adotando-se várias medidas, separadamente ou, preferivelmente, em conjunto, o que caracteriza o manejo integrado do nematoide. A utilização de nematicidas químicos, no geral, não resulta em erradicação dos nematoides-das-galhas e é comum a ressurgência nas populações, ainda dentro do período do ciclo da cultura tratada. Outras práticas, como rotação de cultura, adição de matéria orgânica, solarização do solo e uso de plantas antagonistas ou cultivares resistentes têm as eficiências aumentadas quando associadas à aplicação de certos microrganismos promotores de biocontrole, com isso conferindo maior estabilidade à estrutura geral do solo (Freitas et al., 2009a; Ferraz et al., 2010).

BACTÉRIAS NO CONTROLE DE NEMATOIDES

Bactérias biocontroladoras de nematoides estão presentes em todos os solos e podem ser didaticamente separadas em dois grupos: as que parasitam os nematoides diretamente, como as do gênero *Pasteuria*, e as que reduzem a população de nematoides sem parasitá-los diretamente.

Bactérias não diretamente parasitas de nematoides

As bactérias não parasitas com atividade contra fitonematoides pertencem a diferentes grupos taxonômicos. A maioria das espécies descritas pertence aos gêneros *Pseudomonas* e *Bacillus*, sendo que, entre os demais gêneros, destacam-se *Serratia*, *Streptomyces*, *Burkholderia* e *Paenibacillus*. A diversidade de bactérias é tão grande que, para cada fitonematoide, certamente existem várias espécies de bactérias com atividade antagonista. Atualmente, há vasta literatura sobre bactérias controlando nematoides em muitas culturas, como ilustrado na Tabela 1.

Tabela 1. Relação de espécies de bactérias com atividade contra fitonematóides-alvo.

Espécie	Nematoide-alvo	Fonte
<i>Bacillus firmus</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Geng et al. (2016)
	<i>Rotylenchulus reniformis</i>	Castillo et al. (2013)
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Meloidogyne javanica</i>	Xia et al. (2011)
	<i>Ditylenchus destructor</i>	
<i>Bacillus amylolichefaciens</i>	<i>M. javanica</i>	Xia et al. (2011)
	<i>Aphelenchoides besseyi</i>	
<i>Bacillus methylotrophicus</i>	<i>Meloidogyne hapla</i>	Ma et al. (2013)
<i>Bacillus pumilus</i>	<i>M. javanica</i>	Moghaddam et al. (2014)
	<i>Meloidogyne arenaria</i>	Lee e Kim (2016)
<i>Bacillus megaterium</i>	<i>Meloidogyne graminicola</i>	Padgham e Sikora (2007)
<i>Bacillus mojavensis</i>	<i>M. incognita</i>	Xiang et al. (2017)
	<i>M. incognita</i>	Zuckerman et al. (1993)
	<i>Pratylenchus penetrans</i>	
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>R. reniformis</i>	
	<i>M. incognita</i>	Siddiqui et al. (2005)
	<i>M. javanica</i>	Siddiqui et al. (2006)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>M. graminicola</i>	Ludwig et al. (2013)
	<i>M. incognita</i>	Elbanna et al. (2011)
	<i>M. javanica</i>	Siddiqui e Shaukat (2004)
<i>Pseudomonas putida</i>	<i>M. incognita</i>	Elbanna et al. (2011)
	<i>Radopholus similis</i>	Aalten et al. (1998)
<i>Paenibacillus polymyxa</i>	<i>M. incognita</i>	Son et al. (2009)
<i>Paenibacillus lentimorbus</i>	<i>M. incognita</i>	Son et al. (2009)
<i>Burkholderia</i> sp.	<i>M. incognita</i>	Jonhatan et al. (2000)
<i>Serratia mascerans</i>	<i>M. incognita</i>	Mohamed et al. (2009)
<i>Streptomyces avermitilis</i>	<i>M. incognita</i>	Jayakumar (2009)

Em sua maioria, essas bactérias são rizocompetentes, ou seja, interagem e fazem associações com as raízes, colonizando a rizosfera das plantas, sendo também denominadas rizobactérias. Em muitas situações, as rizobactérias são promotoras (= estimulantes) do crescimento de plantas (Rizobactérias Promotoras do Crescimento de Plantas – RPCP); para mais informações sobre RPCP, consultar o Capítulo 10, deste livro.

As bactérias controlam fitonematóides por meio de vários mecanismos; entre os modos de ação, os três mais comumente empregados, considerados de grande

relevância, são: 1) competição por sítios de penetração por colonização da superfície da raiz; 2) antagonismo direto através de metabólitos nocivos aos nematoides; e 3) indução de resistência sistêmica (IRS).

O primeiro modo de ação, considerado um dos mais importantes, diz respeito à habilidade da bactéria em colonizar a raiz da planta que o nematoide parasita, ou seja, ser rizocompetente. Essa característica muitas vezes é um pré-requisito para gerar efeitos protetivos notáveis, pela redução da disponibilidade de espaço (exclusão de nicho) ou nutrientes para os patógenos (Mariutto; Ongena, 2015). Rizobactérias podem reduzir o reconhecimento das raízes pelos nematoides ao se ligarem às lectinas da superfície delas (Stirling, 1991), pois, segundo Zuckerman et al. (1993), o processo de reconhecimento é controlado por interações entre lectinas da superfície da raiz e carboidratos da cutícula do nematoide. A colonização de raízes recém-formadas é mínima, mas, após alguns dias, microcolônias já aparecem em associação com a matéria orgânica que as pontas das raízes encontram à medida que crescem (Stirling, 1991).

O segundo modo de ação é a forte atividade antagônica a vários patógenos de plantas, baseado na secreção de compostos antimicrobianos ou enzimas hidrolíticas pelas bactérias. Proteínas, enzimas, antibióticos ou quaisquer outras moléculas tóxicas a nematoides produzidas/secretadas por bactérias podem ser verificadas *in vitro* através de avaliação da mortalidade dos nematoides e/ou da não eclosão de juvenis a partir de ovos (confronto entre nematoides e bactérias em condições de laboratório, sem o hospedeiro). Exemplos de compostos ativos contra nematoides obtidos por meio de seleção *in vitro*, incluindo-se moléculas de *Bacillus subtilis* e *Bacillus cereus* ativas contra *Meloidogyne exigua*, que podem ser usadas para o desenvolvimento de produtos para o biocontrole de nematoides, foram disponibilizados nos últimos anos (Oliveira et al., 2007, 2014). Se o objetivo da pesquisa for encontrar moléculas com efeito nematicida, para engenharia genética ou geração de produtos a partir delas, ensaios *in vitro* permitirão, de fato, que seja atingido. Porém, se o propósito for encontrar um agente de controle biológico, no caso uma rizobactéria para o biocontrole de determinado nematoide-alvo, a estratégia de prospecção *in vitro* pode se mostrar falha, sendo comuns discrepâncias entre os resultados de mortalidade de nematoides *in vitro* e no controle pela mesma estirpe *in vivo* (Corrêa et al., 2012; Ludwig et al., 2013). Essa “falha” pode ocorrer porque a produção de um composto que atue diretamente sobre o nematoide não terá importância se a bactéria não colonizar a raiz, pois é necessário que o composto tóxico esteja presente ao longo da raiz para atuar sobre o nematoide, que pode penetrar em diferentes pontos do sistema radicular. Ocorre, também, que a qualidade e a quantidade de compostos produzidos pelas bactérias diferem de acordo com o substrato em que crescem, significando que, quando crescida sob condição de laboratório, a bactéria não produz

os mesmos metabólitos ou a mesma quantidade deles que produziria se estivesse colonizando a rizosfera de uma planta. A produção de metabólitos pelas bactérias pode variar de acordo com a espécie vegetal associada ou mesmo entre cultivares ou híbridos de determinada espécie vegetal.

Uma das limitações no controle biológico por bactérias, que depende direta ou indiretamente da colonização das raízes para atuar sobre nematoides, pode decorrer da redução na população da comunidade bacteriana nas raízes que normalmente ocorre a partir de 3 a 6 semanas após a data de inoculação (Durham, 2013), deixando assim a raiz mais exposta a reinfecções pelos nematoides. Em vista disso, artigos contendo relatos de controle de nematoides por rizobactérias após 30 dias, ou mesmo 45, após a exposição da planta ao nematoide, não são incomuns, porém são raros os estudos relatando o controle altamente eficiente ao final do ciclo de cultivo, principalmente para culturas de ciclo maior do que três ou quatro meses. É possível imaginar que uma forma de contornar a situação seria a aplicação periódica da bactéria nas raízes das plantas, no entanto essa estratégia pode não ser suficiente em razão da sua pouca praticidade e da própria natureza da interação entre bactérias rizoféricas e o sistema radicular. As raízes que se tornam “maduras”, ou seja, passaram da fase de crescimento, produzem menos mucilagem e lisados de células, e liberam menos água em razão da deposição de uma camada de suberina impermeável em torno das células epidérmicas; conseqüentemente, suportam menos comunidades microbianas de crescimento rápido, que incluem as bactérias (Beattie, 2007).

Um terceiro modo de ação relevante de algumas estirpes de bactérias é a habilidade de desencadear resposta imune nos tecidos da planta, levando à expressão da resistência sistêmica, que torna o hospedeiro menos suscetível a uma infecção subsequente [mais informações sobre a indução da resistência em plantas por bactérias podem ser encontradas no Capítulo 20]. A indução de resistência sistêmica já está descrita para vários patossistemas, como fenômeno ocorrente para várias plantas após a associação com rizobactérias, resultando no controle de doenças causadas por diferentes agentes, inclusive fitonematoides. Essa indução de resistência pode estar ligada à produção de compostos fenólicos, lignificação de paredes, entre outros (Mariutto; Ongena, 2015). Exemplos de controle por esse mecanismo estão descritos para espécies de *Meloidogyne*, como no trabalho de Adam et al. (2014), no qual foi comprovado que três rizobactérias da espécie *B. subtilis* induziram resistência em plantas de tomate e reduziram em mais de 40% os números de galhas e massas de ovos de *M. incognita*. O controle pela Indução Sistêmica da Resistência (ISR) por bactérias só ocorre quando há interação da bactéria com a planta e o patógeno, ou seja, a planta precisa ser tratada com o agente indutor de resistência e “desafiada”

com o patógeno para posterior avaliação da ocorrência ou não da indução; trata-se, pois, de mecanismo que não pode ser evidenciado em testes *in vitro*.

Além dos três modos de ação descritos, outra forma peculiar de atuar contra nematoides foi descrito para bactérias da espécie *Bacillus thuringiensis*. Além de proteases, bactérias dessa espécie também podem produzir inclusões cristalinas parasporais, denominadas proteínas Cry, tóxicas quando ingeridas pelos nematoides. Até o momento, sete proteínas Cry ativas contra nematoides – Cry5, Cry6, Cry12, Cry13, Cry14, Cry2 e Cry 55 – são conhecidas (Zhang et al., 2012; Bravo et al., 2013). Especificamente para nematoides do gênero *Meloidogyne*, as proteínas Cry identificadas como tóxicas foram Cry5Ba, Cry6Aa, Cry55Aa (Peng et al., 2011; Zhang et al., 2012) e Cry14 (Ravari; Moghaddam, 2015). É importante observar que a atividade nematicida das proteínas Cry de *B. thuringiensis* ocorre após a ingestão delas pelo nematoide. No solo, os juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne* migram até as raízes das plantas, inserem seus estiletes dentro das células da superfície das raízes em “picadas de prova”, e então começam a penetrar e se alimentar nas camadas adjacentes ao cilindro central após a formação das células gigantes. A presença de proteínas Cry no solo/ao redor das raízes não acarretará efeito depressivo sobre os nematoides nessas circunstâncias. Portanto, as proteínas Cry devem estar no local de alimentação do nematoide para controlá-lo, ou seja, na superfície das raízes ou nos sítios de alimentação. Ainda não se sabe se estirpes de *Bacillus* endofíticas são capazes de chegar até as células de alimentação do nematoide, porém se sabe que é possível expressar essas proteínas no sítio de alimentação pela obtenção de plantas geneticamente modificadas, como no caso em que a proteína Cry6A de *B. thuringiensis*, expressa em raízes de plantas de tomate, foi ingerida pelo nematoide e causou toxicidade a *M. incognita* (Li et al., 2007).

Observa-se, ainda, que há vasta quantidade de gêneros/espécies de bactérias que atuam sobre os nematoides por meio de vários outros mecanismos de ação. Em vista disso, mesmo considerando a complexidade dos ecossistemas que envolvem os diferentes solos, é interessante questionar o limitado conhecimento disponível sobre esse assunto e, inclusive, com resultados por vezes contraditórios. Acredita-se que muitas informações acerca do controle biológico de nematoides por rizobactérias serão disponibilizadas nos próximos anos.

Bactérias do gênero *Pasteuria* no biocontrole de nematoides

As espécies de *Pasteuria* constituem grupo de bactérias hiperparasitas de nematoides fitoparasitas, que produzem endósporos altamente resistentes (Figura 1). A taxonomia desse grupo ainda permanece pouco clara, mas a bactéria é, aparen-

temente, membro do clado *Bacillus-Clostridium* (Charles et al., 2005). Vários gêneros de nematoides de plantas de interesse econômico são parasitados por *Pasteuria* spp. Atualmente, cinco espécies de *Pasteuria*, distintas em relação ao rol de hospedeiros e à patogenicidade, foram descritas parasitando diferentes gêneros de nematoides: (i) *P. penetrans* é parasita de *Meloidogyne* spp. (Sayre; Starr, 1985); (ii) *Pasteuria thornei*, de *Pratylenchus brachyurus* (Sayre et al., 1988); (iii) *Pasteuria nishizawae*, parasita do nematoide-do-cisto-da-soja (*Heterodera glycines*) (Sayre et al., 1991); (iv) *Pasteuria usgae*, parasita de *Belonolaimus longicaudatus* (Giblin-Davis et al., 2003); e (v) *Pasteuria hartismeri*, parasita de *Meloidogyne ardenensis* (Bishop et al., 2007).

Fêmeas de *Meloidogyne* parasitadas por *P. penetrans* no geral não produzem ovos ou poucos ovos sobretudo endósporos da bactéria (Figura 1), exceto sob baixas temperaturas, condição na qual o metabolismo da bactéria fica muito reduzido

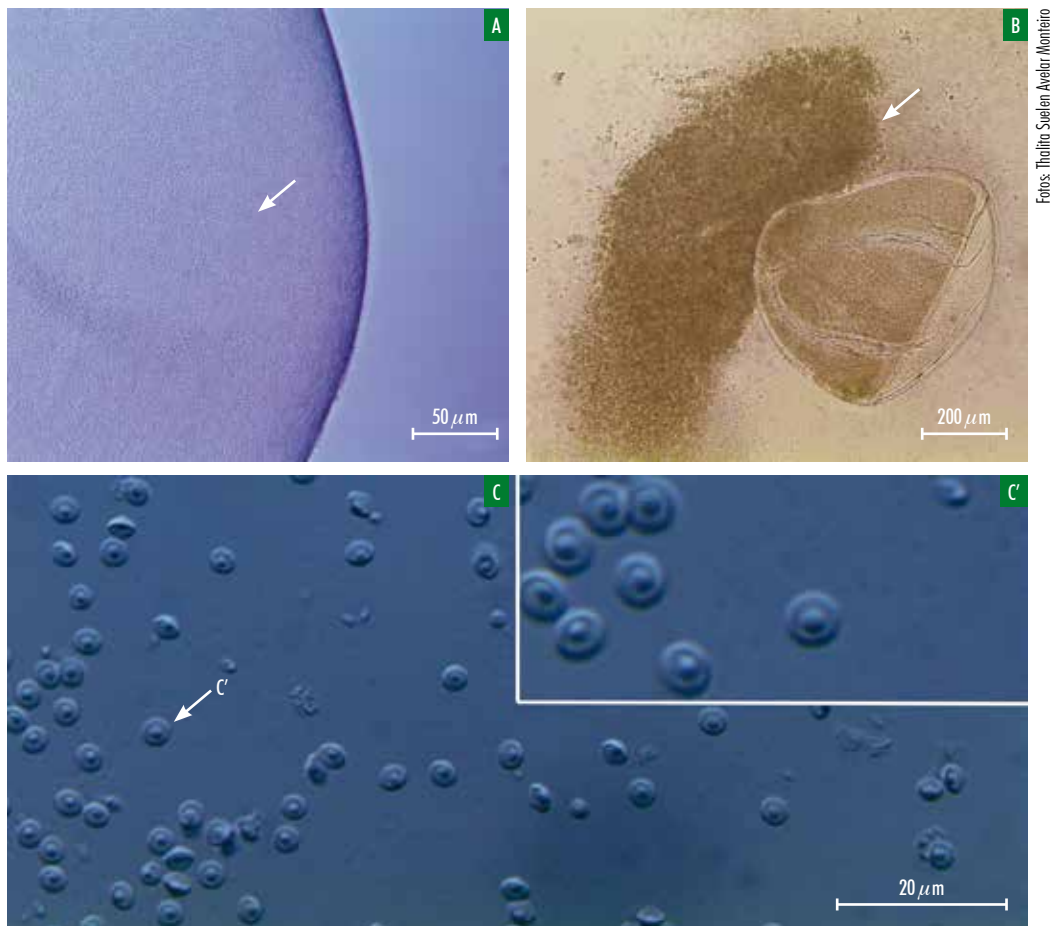


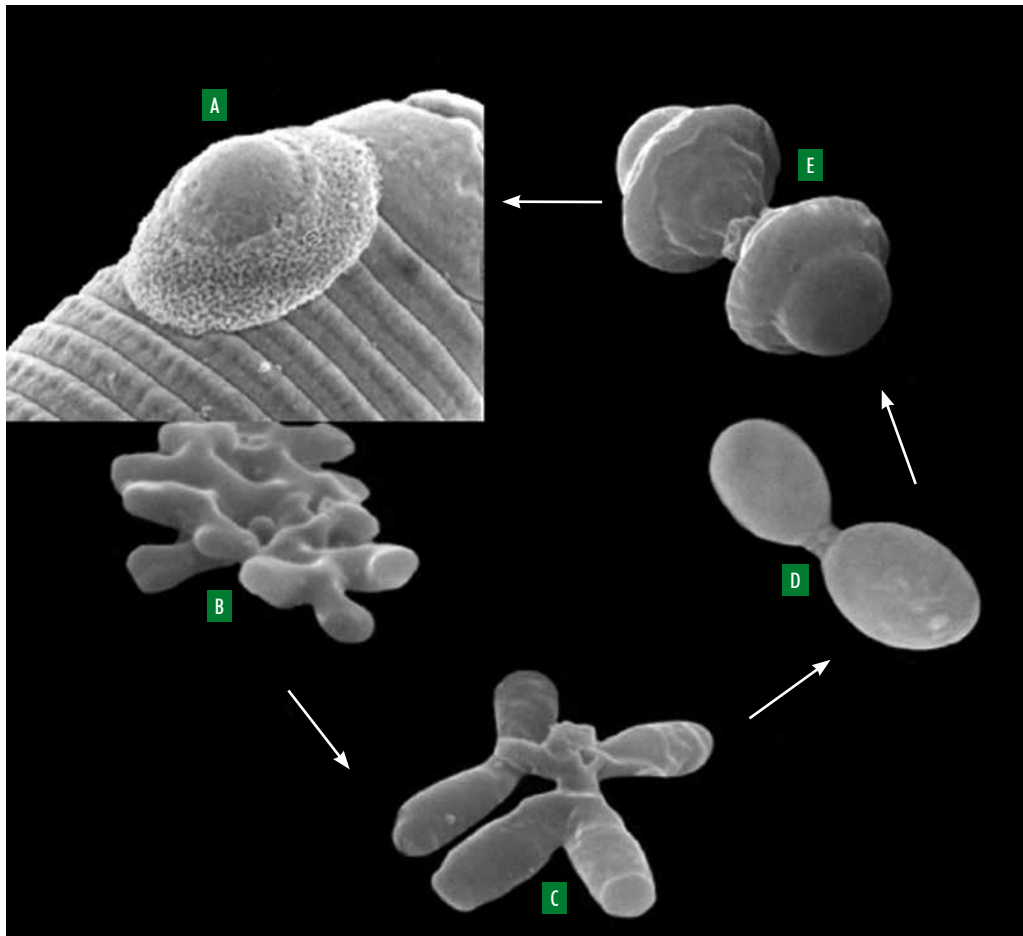
Figura 1. Endósporos de *Pasteuria penetrans* em: fêmea de *Meloidogyne hapla* parasitada pela bactéria (A); fêmea de *M. hapla* macerada e liberação de endósporos (B); e endósporos de *P. penetrans* (C). As setas indicam endósporos.

(Serracin et al., 1997) e a fêmea do nematoide consegue produzir ovos, ainda que em número restrito. Essa eficiência em suprimir a produção de ovos e relatos de sua presença associada à supressividade de vários solos tem sido bem documentada (Oostendorp et al., 1991; Weibelzahl-Fulton et al., 1996; Trudgill et al., 2000; Cetintas; Dickson, 2004; Freitas et al., 2009b), reforçando aos nematologistas a ideia de que possuem bom potencial e podem ser usadas no controle biológico de fitonematoides em culturas economicamente importantes.

Ciclo de vida

Um diagrama ilustrativo do ciclo de vida de *P. penetrans* pode ser observado na Figura 2. Para *P. penetrans* começar a se multiplicar, seus endósporos devem aderir-se à cutícula do juvenil de segundo estágio (J2) do nematoide quando este migra através do solo. Após o contato, os endósporos dormentes, cuja superfície é reconhecida pela superfície da cutícula do J2, aderem ao nematoide e são carregados para o interior da planta quando este a penetra pela raiz. Essa interação envolve lectinas e carboidratos, presentes nos endósporos da bactéria e na cutícula do nematoide (Davies et al., 1992; Davies; Danks, 1992, 1993; Afolabi et al., 1995; Spiegel et al., 1996). Após o J2 induzir a formação das células gigantes, algum sinal, fruto do fitoparasitismo, é secretado pelo nematoide e atinge o endósporo aderido desencadeando a germinação deste e a formação de um tubo germinativo na sua parte basal, que perfura a cutícula, a hipoderme e os músculos somáticos do nematoide até atingir o seu pseudoceloma. A extremidade do tubo germinativo ramificase dicotomicamente formando um micélio septado e dá origem a microcolônias vegetativas. Durante o desenvolvimento, as colônias fragmentam-se gerando novas colônias e as células terminais engrossam, dando origem aos endósporos, que irão amadurecer no interior da fêmea do nematoide (Mankau; Imbriani, 1975).

O desenvolvimento da bactéria ocorre em sincronia com o do nematoide-das-galhas, dentro do sistema radicular, e o comprimento do ciclo de vida se mostra dependente da temperatura (Stirling, 1981; Serracin et al., 1997). Mais de 2 milhões de endósporos são produzidos em uma fêmea de *Meloidogyne* parasitada (Figura 1) (Sturhan, 1985; Sayre et al., 1991). Os endósporos são liberados com a morte e decomposição da fêmea do nematoide e se dispersam no solo com a percolação da água e/ou pela movimentação por máquinas agrícolas (Sturhan, 1985). Antes de aplicar *P. penetrans* como agente de controle biológico, deve-se verificar se há compatibilidade entre os endósporos da bactéria e a cutícula do nematoide-alvo, de modo a se definir se os endósporos irão se ligar ao nematoide ou não (Stirling, 1985).



Fotos: Leonardo Grassi de Freitas

Figura 2. Micrografia eletrônica de varredura de *Pasteuria penetrans* em diferentes estádios do ciclo de vida: (A) endósporo maduro aderido ao nematoide e penetração na cutícula; (B) micélio bacteriano em microcolônias vegetativas retirado do interior do nematoide; (C) microcolônias em fragmentação e extremidades que se engrossam; (D) células parasporais; e (E) endósporos maduros liberados ao solo, completando o ciclo da bactéria.

Produção massal in vivo e métodos de cultivo in vitro

Um método para a produção massal de endósporos in vivo foi descrito pela primeira vez por Stirling e Wachtel (1980). Esse método, por meio do qual é possível produzir endósporos suficientes para fins experimentais, implica em aderir cinco a dez endósporos de *P. penetrans* por J2 e inocular esses J2 em plantas de tomate cultivadas em vasos. O tempo necessário para que o ciclo de vida da bactéria sincronize com o ciclo do nematoide depende da temperatura (Stirling, 1981; Chen; Dickson, 1997; Serracin et al., 1997; Darban et al., 2004) e leva cerca de 7 a 9 semanas a 25 °C, em média. Na ocasião da colheita, os sistemas radiculares são lavados e as raízes são secas sob temperatura ambiente antes de serem moídas. O rendimento na produção

de endósporos varia, em geral, de 10^7 a 10^9 endósporos por grama de raízes de tomateiro moídas.

O fato de que apenas quantidades limitadas de endósporos podem ser produzidas in vivo pelo método descrito tem estimulado muitos pesquisadores a tentar desenvolver um meio de cultura da bactéria in vitro. As primeiras tentativas não tiveram êxito (Bishop; Ellar, 1991), embora tenha sido apresentada uma patente mostrando que os endósporos poderiam ser produzidos em meios que continham tecido extraído dos nematoides (Previc; Cox, 1992). Em outras pesquisas, evidenciou-se a possibilidade de manter as formas vegetativas da bactéria por curtos períodos de tempo em determinado meio artificial e que outros meios poderiam levar até à sua esporulação (Bishop; Ellar, 1991). A empresa Pasteuria Biosciences LLC, com sede na Flórida, EUA, desenvolveu um método de cultura in vitro (Hewlett et al., 2004; Gerber; White, 2005) que permitia produzir endósporos em fermentação líquida em número suficiente à realização de pequenos ensaios (Hewlett et al., 2006).

Nos Estados Unidos, um primeiro produto, à base de *P. usgae*, foi lançado em 2010, pela Pasteuria Bioscience, visando ao controle de *B. longicaudatus* em campos de golfe, tendo sido, porém, mal avaliado quanto à eficácia em ensaios realizados no estado da Flórida (Crow et al., 2011). Em 2013, outro bionematicida, à base de *P. nishizawae*, foi então lançado, pela empresa Syngenta, para o controle do nematoide-de-cisto-da-soja (*H. glycines*). Nas avaliações de desempenho do produto a campo em ensaios iniciais no estado de Minnesota, quando confrontado com o tratamento convencional, os resultados ficaram aquém das expectativas, não sendo superiores aos da testemunha (Potter et al., 2015). Em 2017, o produto foi lançado no Brasil.

Em relação a esses resultados nem sempre satisfatórios obtidos a campo, em particular no caso de *P. usgae* frente a *B. longicaudatus*, em excelente capítulo de livro publicado em 2014, o pesquisador G. R. Stirling, renomado especialista em *P. penetrans*, especulou que a menor eficácia mostrada pela bactéria produzida in vitro possa estar ligada a alterações importantes ocorridas nos endósporos – principalmente no tamanho e capacidade de adesão à cutícula do nematoide – durante o processo de fermentação (Stirling, 2014).

Fatores que afetam a relação *Pasteuria penetrans*-nematoides

Há vários fatores abióticos que se sabe podem afetar a relação entre *P. penetrans* e nematoides-das-galhas, acreditando-se que possam ainda existir outras variáveis desconhecidas. Alguns dos fatores que mais se destacam são comentados a seguir.

Efeito da temperatura

A adesão de endósporos e o desenvolvimento de *P. penetrans* em *M. javanica* e em *M. arenaria* ocorrem de forma mais eficiente em temperaturas entre 25 °C e 30 °C (Stirling, 1981; Stirling et al., 1990; Hatz; Dickson, 1992; Freitas, 1997). Stirling (1981) observou que a duração do ciclo de vida de *P. penetrans* foi reduzida em cerca de 70% a 30 °C, comparado a 20 °C. Embora *P. penetrans* forme endósporos como outras bactérias termófilas, ela é na verdade uma bactéria mesófila (Chen; Dickson, 1998). Existe uma correlação entre a resistência dos endósporos e a concentração de ácido dipicolínico (Mallidis; Scholefield, 1987). Esse composto químico constitui de 5% a 15% do peso dos esporos de *Bacillus* spp. e de outras bactérias termófilas, mas os endósporos de *P. penetrans* possuem uma concentração muito menor (0,96%). Essa diferença está provavelmente correlacionada ao fato de *P. penetrans* ser menos resistente ao calor do que as bactérias termófilas (Williams et al., 1989).

Efeitos do tipo de solo, umidade, adubação e pH

Embora *P. penetrans* seja encontrada em vários tipos de solo, a maioria dos solos supressivos a nematoides em decorrência da presença dessa bactéria é de textura arenosa (Freitas, 1997; Chen; Dickson, 1998). Mateille et al. (1995) verificaram maior adesão da bactéria em *Meloidogyne* spp. em solos arenosos do que em solos argilosos. A maior movimentação de J2s em solo arenoso do que em solo argiloso aumenta a possibilidade de contato entre eles e os endósporos imóveis da bactéria; além disso, a maior percolação de água em solos arenosos faz com que endósporos aplicados na superfície do solo atinjam as camadas mais profundas, onde se encontram os nematoides (Oostendorp et al., 1990). Alguns tratamentos culturais, como irrigação, aração e gradagem, melhoram a distribuição de endósporos no campo, aumentando as chances de contato entre *P. penetrans* e nematoides-das-galhas. De acordo com Chen et al. (1994), a adubação com altos níveis de nitrato de amônia causou aumento no número de endósporos de *P. penetrans* produzidos por fêmea de *Meloidogyne* spp. e reduziu a eclosão dos J2s. Entretanto, Chen e Dickson (1997) observaram redução do número de endósporos por fêmea de *M. arenaria* com o aumento da concentração de nitrato de amônia. A adição de esterco de curral curtido ao solo também reduziu o número de endósporos por fêmea, mas não impediu o desenvolvimento de *P. penetrans* (Gomes et al., 1998).

Os efeitos do pH sobre *P. penetrans* são variados e de difícil interpretação (Chen; Dickson, 1998). Segundo O'Brien (1980), a adesão de endósporos de *P. penetrans* à cutícula de *M. javanica* e de *M. arenaria* não foi afetada pelo pH na faixa entre 4,5 e 8,5.

Supressividade do solo por *Pasteuria penetrans*

Microrganismos de ocorrência natural no solo são responsáveis por muitos exemplos de supressividade do solo (Baker; Cook, 1974). *Pasteuria penetrans* tem sido observada em solos supressivos a nematoides e tem suprimido nematoides em casa de vegetação e em experimentos em microparcelas (Chen; Dickson, 1998). Apesar desses relatos, tem sido difícil determinar a extensão do papel de *P. penetrans* na supressão de doenças causadas por nematoides. Stirling (1984) determinou que *P. penetrans* foi a causa do declínio nas populações de nematoides-das-galhas em cultivos de uva no sul da Austrália; ao adicionar nematoides a vasos com solo de campo em estado natural ou autoclavado, ele observou que os nematoides se multiplicaram muito mais em solo autoclavado do que em solo natural, pois a autoclavagem inativou *P. penetrans*. Entretanto, isso não eliminou a hipótese de que outro organismo pudesse estar interagindo com *P. penetrans* na redução da população do nematoide. Chen (1994) determinou que a autoclavagem do solo por 4 minutos/kg eliminou a maioria dos fungos e bactérias do solo, mas não *P. penetrans*. Essa técnica tem sido útil para a separação dos efeitos antagônicos causados por fungos nematófagos e *P. penetrans* no controle de nematoides.

No Brasil, no estado do Maranhão, *P. penetrans* foi muito eficiente no controle do nematoide-das-galhas em cultura de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*), tornando o solo supressivo por mais de 8 anos. As condições de altas temperaturas, água abundante e solo arenoso da região haviam levado *M. javanica* a se tornar fator limitante ao cultivo no local e, como se tratava de planta medicinal [utilizada para a produção de colírio eficaz no tratamento de glaucoma], o uso de nematicidas químicos não era recomendado, o que levou *P. penetrans* a ser testada na área. A bactéria foi aplicada ao solo em suspensão aquosa de pó de raiz com o uso de pulverizador costal, de forma a resultar numa concentração de 10^3 endósporos por grama de solo nos primeiros 20 cm de profundidade em uma área de 170 m² no campo, uma pequena parcela dos 102,4 ha de área de cultivo irrigado de jaborandi infestada por *M. javanica*. A área sob o pivô foi amostrada 2 anos após a aplicação e constatou-se que 72,8% dos J2s continham endósporos aderidos à cutícula, sendo que, na área onde *P. penetrans* foi aplicada, 83,9% dos J2s apresentavam endósporos aderidos. Em outra área da mesma fazenda, também de 102,4 ha e plantada com jaborandi, endósporos de *P. penetrans*, em suspensão aquosa de pó de raiz (10^7 endósporos por grama de pó, diluídos na proporção de 6 g por 20 L de água), foram aplicados sobre a superfície do solo, 5 cm próximos da linha de plantio, em cerca de 15 ha. Após um ano da aplicação, constatou-se a presença de endósporos em 85,4% dos J2s examinados. Na área aplicada, 96,7% dos J2s continham *P. penetrans* em média de 3

endósporos/J2 (Freitas et al., 1999; Freitas; Carneiro, 2000). Considerando-se a baixa quantidade de inóculo de *P. penetrans* aplicada ao solo e o pequeno tamanho das áreas tratadas, sua distribuição uniforme pelas áreas irrigadas por dois pivôs centrais mostra a grande capacidade de disseminação da bactéria, o que confirma sua característica de colonizadora agressiva de solo (Davies et al., 1991; Oostendorp et al., 1991; Kasumimoto et al., 1993). Acredita-se que a textura arenosa do solo aliada ao trânsito intenso de máquinas, pessoas e animais na área garantiram a boa disseminação da bactéria. Altas temperaturas, culturas que toleram alta reprodução do nematoide, água em abundância e alta disseminação de *P. penetrans* são fatores que favorecem a multiplicação da bactéria e a elevação de sua densidade populacional no solo.

Pasteuria penetrans foi avaliada no campo também em Santa Catarina, para a redução de *M. incognita* em plantação de fumo, tanto em solo arenoso como argiloso. A supressividade em solo arenoso no Sul do país também foi observada, mas, em solos com maior teor de argila, a supressividade não ocorreu com a mesma intensidade. O clima quente do Maranhão contribuiu para o rápido desenvolvimento de solo supressivo, ao passo que, em Santa Catarina, com outono e inverno marcados por baixas temperaturas, o desenvolvimento da supressividade se deu de forma mais lenta, levando o dobro do tempo. Como *P. penetrans* depende do encontro de seus endósporos com os J2s no solo para a aderência e multiplicação, o desenvolvimento de supressividade resultante de alta concentração de esporos só ocorre em solos também altamente infestados pelo nematoide-alvo. Dessa forma, todas as condições que favoreçam o desenvolvimento do nematoide serão importantes para a reprodução dessa bactéria.

FUNGOS NO CONTROLE DE NEMATOIDES

Os fungos nematófagos podem ser classificados em dois grandes grupos: parasitas obrigatórios e parasitas facultativos. No caso de parasitas obrigatórios, seus esporos podem infectar os nematoides, iniciando-se a infecção por ingestão e penetração no trato gastrointestinal ou por adesão à cutícula do nematoide e subsequente penetração direta. Os parasitas facultativos podem alterar seu estado de saprófita, colonizando o solo, rizosfera ou as raízes, e infectar diretamente os nematoides. Podem produzir estruturas especializadas (fungos predadores), que capturam os nematoides e impedem a sua migração (Figuras 3A e 3B), ou parasitar ovos e fêmeas de nematoides através de hifas, que desenvolvem apressório (Figura 3C) capaz de romper a casca do ovo, seguida de penetração e colonização interna (Barron, 1977).



Figura 3. Estruturas produzidas por fungos nematófagos: (A) anel constritor; (B) rede adesiva; e (C) intenso crescimento micelial sobre os ovos.

Fungos endoparasíticos

Nematoides extraídos de solos de campo podem apresentar estruturas semelhantes a vesículas no seu interior. Geralmente, essas estruturas são esporângios repletos de esporos móveis (zoósporos) de fungos de um grupo que sobrevive quase que exclusivamente no interior dos nematoides. Quando no solo, esses esporos móveis se aderem à cutícula do nematoide, germinam, a hifa produzida penetra ativamente pela cutícula, chega ao interior do corpo e passa a absorver os nutrientes do fluido pseudocelômico. Essas hifas praticamente não crescem no ambiente exterior ao corpo do nematoide, dando um caráter quase de parasitas obrigatórios a esse grupo de fungos, que, entre outros, inclui *Hirsutella rhossiliensis*, *Catenaria auxiliaris*, *Nematophthora gynophila*, *Drechmeria coniospora*, *Harposporium* spp., *Myzocyttium* spp., *Nematoctonus* spp., *Acrostalagmus* spp. e *Haptoglossa* spp. (Stirling, 1991; Siddiqui; Mahmood, 1996). *Hirsutella rhossiliensis* tem sido estudado para o controle de nematoides (Jaffee et al., 1992), entretanto, não se mostrou eficiente no controle de *M. javanica* (Tedford et al., 1993). No entanto, em outras investigações verificou-se que um fungo muito próximo, *Hirsutella minnesotensis*, reduziu as populações de *M. hapla* de 61% a 98%, sendo considerado eficiente para suprimir populações dessa espécie em sistemas de produção de hortaliças (Mennan et al., 2006, 2007). O fator primordial que limita a exploração de fungos endoparasitas para o controle na prática é a sua baixa capacidade saprofítica, que impede esses microrganismos de serem multiplicados em larga escala e se estabelecerem no solo na ausência do nematoide, além de sua grande dependência de água livre no solo para a locomoção dos zoósporos (Siddiqui; Mahmood, 1996).

Fungos predadores

Os fungos mais interessantes são os predadores, pela formação de estruturas na forma de armadilhas, capazes de capturar os nematoides durante sua migração

no solo. Diferentes espécies de fungos produzem diferentes estruturas de captura. Essas armadilhas apresentam características particulares conforme a espécie do fungo, podendo ser: a) hifas adesivas não modificadas; b) hifas adesivas tridimensionais; c) nódulos adesivos; d) anéis constritores; e) anéis não constritores (Figura 4).

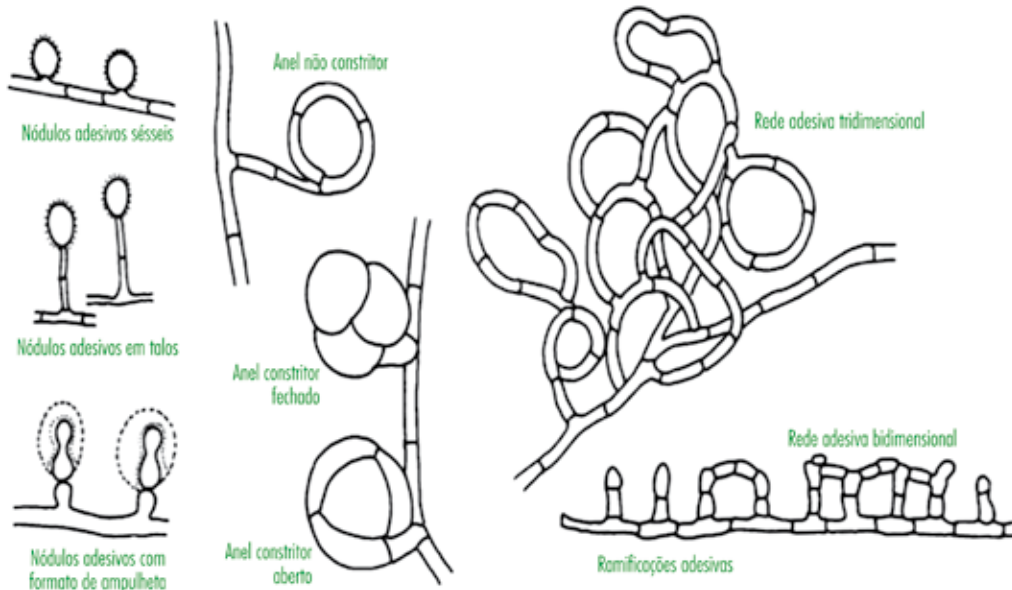


Figura 4. Órgãos de captura de fungos predadores.

Ilustração: Leandro Grassi de Freitas

As estruturas mais simples são as hifas cobertas com secreções adesivas, tais como as do gênero *Stylopage*. Outro tipo são os ramos adesivos, como os produzidos por *Monacrosporium cionopagum* (Stirling, 1991). Essas estruturas consistem de uma a três células para formar redes bidimensionais adesivas, que representam a maior parte das armadilhas fúngicas (Exemplo: *Arthrobotrys oligospora*, *Arthrobotrys superba*, *Dactylella pseudoclavata*). Outros grupos de fungos predadores produzem esporos adesivos (*Meristacrum* spp.) ou bulbos adesivos (*Arthrobotrys haptotyla*, *Nematoctonus* spp.) (Kerry; Jaffee, 1997; Lopez-Llorca et al., 2002). As armadilhas mais sofisticadas formadas pelas hifas fúngicas são os anéis constritores, observados em *Arthrobotrys dactyloides* e *Monacrosporium doedycoides*. O anel se enlaça em torno do corpo de nematoides em migração no solo, quando estes eventualmente os atravessam (Stirling, 1991). Se um nematoide entrar no anel, as três células hifais que o constituem incham rapidamente e mantêm o nematoide firmemente preso (Figura 3A). Os fungos predadores não são específicos e capturam tanto nematoides de vida livre como parasitas de plantas ou de animais. Assim que o nematoide é capturado, o fungo perfura a cutícula com suas hifas de penetração, que colonizam o corpo do nematoide e vão formar hifas

tróficas, que finalmente emergem do corpo (Jansson; Nordbring-Hertz, 1988). A densidade populacional e a composição dos fungos predadores variam consideravelmente dependendo das condições edafoclimáticas (Persmark et al., 1996).

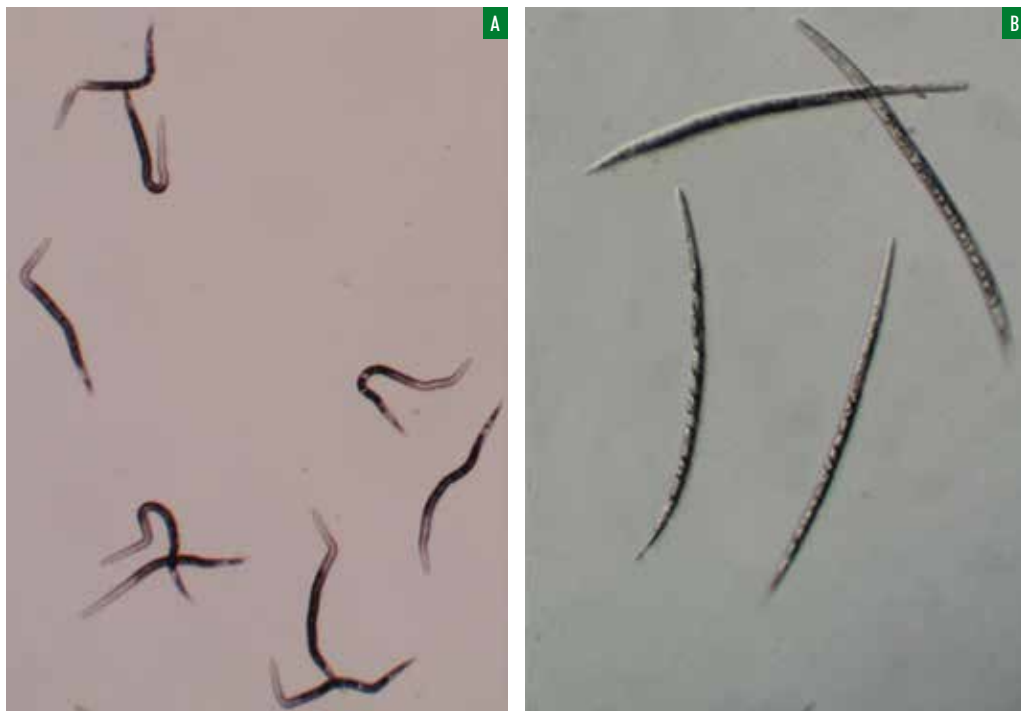
Em muitos casos, a formação das estruturas de captura é induzida pela presença de nematoides ou por compostos orgânicos (aminoácidos, peptídeos), compostos inorgânicos e hormônios (Persmark; Nordbring-Hertz, 1997; Xu et al., 2011). Enquanto a maioria dos fungos predadores coloniza o solo e espera pelos nematoides, alguns fungos, como *A. superba*, produzem compostos secundários que atraem os J2s de *Meloidogyne*, enquanto outros fungos aumentam suas chances de contacto com os nematoides colonizando a rizosfera. A eficácia na formação de armadilhas varia com a espécie do fungo predador, mas, infelizmente, os predadores com boa capacidade antagonista são frequentemente fracos colonizadores do solo, em razão de sua baixa capacidade saprofítica, o que limita seu potencial como agentes de controle (Hallmann et al., 2009).

Os fungos predadores com capacidade de colonização da rizosfera apresentam maiores chances como agentes de controle biológico, pois capturam os fitonematoides quando estes migram em direção às raízes das plantas. Os fungos predadores também produzem compostos antimicrobianos e compostos nematicidas, tais como ácido linoleico (*A. oligospora*, *Arthrobotrys conoides*) ou pleurotina (*Nematococcus robustus*, *Nematococcus concurrens*) (Anke et al., 1995). A produção de ácido linoleico foi positivamente correlacionada com o número de armadilhas formadas. Existe uma correlação entre densidade dos fungos no solo e adição de matéria orgânica, mas essas observações foram geralmente obtidas em experimentos de casa de vegetação e não de campo (Timm et al., 2001).

Fungos produtores de toxinas

Os fungos agentes de controle biológico de fitonematoides são, em sua maior parte, habitantes do solo e necessitam ser versáteis (ter plasticidade de ação) para garantir sucesso no parasitismo ou predação desses patógenos em ambiente tão complexo. Para isso, a maioria desses antagonistas possui mais de uma forma de ação sobre nematoides, incluindo-se entre elas a produção de toxinas. São conhecidos aproximadamente 80 gêneros de fungos que produzem compostos com atividade nematicida e, entre eles, destacam-se *Pochonia*, *Purpureocillium*, *Trichoderma*, *Arthrobotrys*, *Monacrosporium*, *Aspergillus* e *Penicillium* (Li; Zhang, 2014). As toxinas são compostos oriundos de metabólitos secundários dos organismos e, no caso de fungos, existem vários relatos sobre os efeitos de metabólitos tóxicos sobre ovos e formas ativas de nematoides (Hayashi et al., 2007; Kimura et al., 2007; Bokhari, 2009; Wang et al., 2015).

Em ensaio no qual se utilizaram metabólitos secundários de *Pochonia chlamydosporia* (Figura 5), obtiveram-se 72% de mortalidade de juvenis de *M. javanica*, após 48 horas do contato deles com os metabólitos do fungo, e os juvenis sobreviventes, inoculados em muda de tomateiro, não foram capazes de se desenvolver, não originando ovos nem galhas após 30 dias (Monteiro, 2017). Esse fungo produz enzimas importantes à efetivação do parasitismo de ovos, bem como metabólitos secundários que agem sobre os juvenis, fazendo com que *P. chlamydosporia* tenha sucesso no controle de fitonematoides de diferentes gêneros.



Fotos: Thalita Suelen Avelar Monteiro

Figura 5. Juvenis de *Meloidogyne javanica* 48 horas após serem tratados ou não com extrato do fungo *Pochonia chlamydosporia*: (A) juvenis imersos em água esterilizada; e (B) juvenis em suspensão do extrato (contendo apenas metabólitos secundários) do fungo.

Como facilitam a infecção dos hospedeiros, as pesquisas sobre o uso desses metabólitos tóxicos para o controle de fitopatógenos, nematoides inclusive, vêm crescendo na área fitopatológica (Sharon et al., 2011).

Fungos saprófitas

Fungos saprófitas (ou parasitas facultativos), que se alimentam da matéria orgânica em decomposição, podem ter o desenvolvimento alterado para o tipo parasitário.

A mudança da fase saprofítica para parasitária é regulada por interações complexas e pode ocorrer pela presença do nematoide, que, alterando a exsudação radicular, pode estimular o fungo a agir sobre o patógeno (Kerry, 2000; Manzanilla-López et al., 2011).

Trichoderma é um fungo de larga ocorrência no solo em matéria orgânica em decomposição e que também coloniza a superfície e o córtex radicular. Várias espécies do gênero são antagonistas bem conhecidas de fungos fitopatogênicos e algumas são relatadas como antagonistas aos nematoides-das-galhas, como *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride*, *Trichoderma atroviride* e *Trichoderma asperellum* (Sharon et al., 2001, 2007). A utilização de *Trichoderma* resulta em maior crescimento das plantas, o que, em longo prazo, pode estar relacionado a uma maior tolerância conferida à planta em relação aos danos causados pelo nematoide (Spiegel; Chet, 1998). Produção de metabólitos antifúngicos, competição por espaço e nutrientes e indução de respostas de defesa das plantas têm sido sugeridos como mecanismos para a atividade de biocontrole de *Trichoderma* spp. (Sharon et al., 2011).

Medeiros et al. (2017) observaram que, além de *T. atroviride* reduzir o número de galhas e massa de ovos de *M. javanica* em plantas de tomate, a progênie desses tomateiros herdou a característica de resistência induzida para o controle do nematoide de galhas. Isso significa que as plantas levaram a característica de controle de nematoides para a segunda geração (F1).

Em adição à capacidade de promover melhoria do crescimento da planta, *Trichoderma* produz conidióforos altamente ramificados e conídios que aderem aos nematoides-das-galhas, germinam e penetram em seus ovos e/ou formas juvenis (Sharon et al., 2007). Os conídios de *T. asperellum*-203, *T. asperellum*-44 e *T. atroviride* se ligaram às massas de ovos e levaram ao parasitismo dos ovos e de eventuais J2s dentro da "gelatina" que envolve os ovos; nos casos de ovos e J2s de fora da "gelatina", houve taxas mais baixas de parasitismo, indicando um papel importante da glicoproteína que envolve os ovos no parasitismo fúngico. No entanto, outras espécies de *Trichoderma* se comportam de forma diferente; por exemplo, *T. harzianum* não é capaz de crescer em matrizes gelatinosas, mas colonizou ovos e J2 de *M. javanica* (Sharon et al., 2011).

Apesar de micoparásita, *Trichoderma* apresenta grande compatibilidade com outro fungo agente de controle biológico de nematoides, *P. chlamydosporia* (Alves, 2016). Ensaios in vitro e em casa de vegetação indicaram que esses agentes são compatíveis e que alguns isolados possuem maior compatibilidade que outros. Além disso, observou-se redução no número de ovos de até 62% quando foram aplicados juntos para o manejo de *M. javanica*, indicando que a utilização conjunta desses organismos tem potencial para ser empregada no manejo de nematoide-das-galhas.

Em geral, *Trichoderma* deve ser aplicado antes do plantio para atingir o máximo de controle do nematoide (Dababat et al., 2006). Existem vários métodos de aplicação possíveis, como tratamento de sementes, formulação seca, entre outras. A combinação de *Trichoderma* com tratamentos orgânicos, como o esterco de galinha, foi usada com sucesso para melhorar o controle global de nematoides (Islam et al., 2005). Em todos os casos, o bom estabelecimento do fungo na rizosfera parece ser importante para o controle de nematoides. Apesar de *Trichoderma* colonizar a rizosfera, ainda não foi isolado da parte interna das raízes. Além de *Trichoderma*, o solo abriga um espectro diversificado de fungos saprófitas com atividade antagonista em relação a nematoides fitoparasitas. Dessa maneira, destacam-se os gêneros *Gliocladium*, *Fusarium*, *Acremonium*, *Cylindrocarpon* e muitos outros. Eles parasitam ovos e J2s do nematoide-das-galhas ou liberam no solo metabólitos secundários, tóxicos para os nematoides (Rodríguez-Kábana et al., 1984; Freitas et al., 1995; Goswami et al., 2008).

Fungos endofíticos

O potencial de fungos endofíticos para reduzir a infestação causada por *Meloidogyne* spp. foi demonstrado pela primeira vez para fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em hortaliças transplantadas (Sikora; Schönbeck, 1975). Pré-inoculação de mudas de tomate com FMA causou elevados níveis de colonização das raízes e, posteriormente ao transplante para o campo, proporcionou redução da infecção por *Meloidogyne* spp. No entanto, se esporos forem inoculados diretamente no solo em condições de campo, não haverá controle efetivo dos nematoides, porque os fungos endomicorrízicos não colonizam rapidamente os tecidos da raiz e só são eficientes quando certa taxa de micorrização é atingida. Para o algodão, Saleh e Sikora (1984) relataram que 38% de micorrização por *Glomus fasciculatum* foi necessária para o controle de *M. incognita*. Entretanto, essa porcentagem pode variar entre as culturas e espécies de FMA. Outra estratégia para atingir altas taxas de micorrização poderia ser por meio da rotação de culturas, procedendo-se à escolha de plantas conhecidas por promover crescimento das populações do fungo no campo, o que permitiria uma rápida e extensiva colonização da raiz. Os efeitos benéficos dos FMA são múltiplos, na medida em que absorvem e acumulam seletivamente nutrientes, como o fósforo, resultando em melhor crescimento das plantas e maior resistência à infecção por nematoides, bem como por outros patógenos fúngicos (Diedhiou et al., 2003). Finalmente, a resistência de plantas induzida por FMA tem sido também relatada (Elsen et al., 2008), mas esse fato em relação ao controle de *Meloidogyne* ainda aguarda estudos corroborativos, pois, em alguns casos, o aumento do tamanho da raiz por FMA levou também a aumento na infecção por nematoides (Cofcewicz et al., 2001).

Apesar dos bem-documentados efeitos dos FMA no controle de nematoide-das-galhas (Bagyaraj et al., 1979; Mohanty; Sahoo, 2003), a natureza parasitária-obrigatória deles limita a produção comercial de grandes quantidades do produto. Dessa maneira, fungos saprófitas facultativos com propriedades antagônicas podem representar uma escolha preferível. Eles podem facilmente ser cultivados e formulados comercialmente e a tecnologia de aplicação já existe. Fungos endofíticos-saprófitas são onipresentes no solo e podem colonizar as raízes das plantas imediatamente após a germinação das sementes.

O interesse em fungos endofíticos para controle de nematoides levou ao estudo de vários isolados não fitopatogênicos de *Fusarium oxysporum*, que causaram redução na podridão de raízes de bananeira causadas por *Pratylenchus goodeyi* (Speijer, 1993). Trabalhos feitos com o nematoide-das-galhas demonstraram uma redução inferior a 50% na penetração dos J2s e na reprodução do nematoide em raízes colonizadas por *F. oxysporum* (Hallmann; Sikora, 1994). A descoberta do caráter endofítico de *P. chlamydosporia* por Kerry et al. (1984) e sua capacidade de promover o crescimento vegetal (Dallemele-Giaretta et al., 2015; Larriba et al., 2015), a absorção de nutrientes (Monteiro, 2017; Monteiro et al., 2018; Gouveia et al., 2019) e a indução de resistência (Larriba et al., 2015; Medeiros et al., 2015) abriram novas perspectivas para o uso desse agente no biocontrole. Apesar de ser um fungo saprófita facultativo e também endofítico (Figura 6), essa espécie tem sido destacada por sua capacidade de parasitar ovos e fêmeas de nematoides, o que será melhor comentado no próximo item.

Enquanto os FMA e os endófitos saprófitas diferem parcialmente na biologia, colonização e modo de ação, a aplicação combinada de dois tipos de endófitos pode aumentar o controle de nematoides. Seguindo essa abordagem, Diedhiou et al. (2003) aplicaram *Glomus coronatum* e *Fusarium oxysporum* 162 (FO162) simultaneamente.

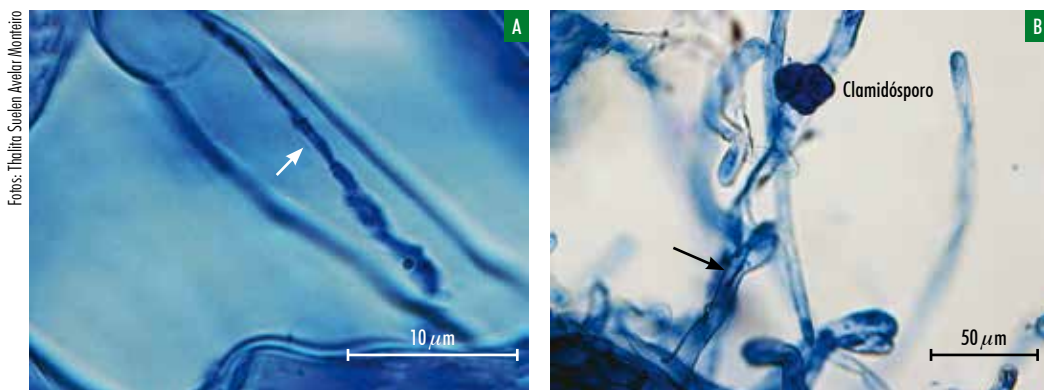


Figura 6. Fungo endofítico *Pochonia chlamydosporia* associado às raízes de tomateiro: (A) hifa do fungo colonizando o pelo radicular; e (B) clamidósporo do fungo associado às raízes.

Embora a aplicação combinada não tenha resultado em aumento na supressão de nematoides, no experimento foram observadas algumas interações interessantes entre os dois endofíticos. Primeiro, o fungo FO162 estimulou a micorrização por *G. coronatum* e, segundo, as raízes não foram colonizadas internamente pelo FO162. No entanto, a sinergia de dois fungos diferentes já foi relatada para *Glomus mosseae* quando combinado com o parasita de ovos *Purpureocillium lilacinum* para o controle de *M. javanica* em tomateiro (Al-Raddad, 1995).

O papel dos metabólitos nematotóxicos produzidos por fungos no controle dos nematoides parasitas de plantas é ainda questionável. Embora o potencial dos fungos endofíticos de produção de metabólitos altamente tóxicos aos J2 de *M. incognita* esteja bem documentado (Hallmann; Sikora, 1996; Sundararaju et al., 2002), não há evidências de que esses metabólitos sejam produzidos biologicamente em concentrações suficientes para utilização em condições de campo (Hallmann et al., 2009).

Fungos parasitas de ovos e fêmeas de nematoides

Entre as muitas espécies de fungo que parasitam nematoides, poucas foram consideradas com real potencial para o desenvolvimento de produtos de controle biológico (Siddiqui; Mahmood, 1996); entre elas, se destacam *P. lilacinum* (syn. *Paecilomyces lilacinus*) e *P. chlamydosporia* (syn. *Verticillium chlamydosporium*), que podem parasitar tanto ovos como fêmeas de várias espécies de nematoides (Morgan-Jones et al., 1982, 1983; Rodríguez-Kábana et al., 1984; Freire; Bridge, 1985; De Leij; Kerry, 1991; Siddiqui; Mahmood, 1996).

Pochonia chlamydosporia foi relatado como parasita de ovos de fitonematoides após ter sido isolado de ovos de *Heterodera schachtii* Schmidt e *Heterodera avenae* Woll. (Willcox; Tribe, 1974). Esse fungo é a principal causa de supressividade de solos a esses nematoides no campo, atuando como agente natural de controle biológico. É oportuno esclarecer que várias estirpes (= *strains*) distintas do fungo têm sido utilizadas para a formulação de diferentes bioprodutos comerciais visando ao controle de fitonematoides em diversos países da Europa, África e Américas, inclusive no Brasil (Kerry et al., 1993; Manzanilla-López et al., 2013).

A fase de ovo no nematoide-das-galhas é o estágio de maior suscetibilidade ao ataque de *P. chlamydosporia* pelo fato de estar geralmente na superfície das raízes (Figura 7). A penetração ocorre como o resultado de pressão física do apressório, que se desenvolve a partir de hifas não diferenciadas, e através de atividade enzimática (Lopez-Llorca et al., 2002). A enzima serine protease (VCP1) remove a camada vitelínica da casca do ovo e expõe a camada de quitina, que é então

Foto: Thailita Suelen Avelar Monteiro



Figura 7. Ovo de *Meloidogyne javanica* parasitado pelo fungo *Pochonia chlamydosporia*, com seta indicando arranjo de conídios.

dissolvida por quitinases, a exemplo da CHI43 (Tikhonov et al., 2002; Kerry; Hirsch, 2011). Tanto *P. chlamydosporia* como *P. lilacinum* produzem serine proteases e várias quitinases, que se mostraram importantes na degradação da casca do ovo (Khan et al., 2004). Isso parece indicar que as enzimas produzidas por diferentes fungos são semelhantes quanto à atuação no parasitismo sobre ovos de *Meloidogyne* spp.

Uma das principais características positivas de *P. chlamydosporia* é a de que esse fungo produz clamidósporos, aglomerados de células de paredes grossas que funcionam como estruturas de armazenamento de reservas nutricionais e de sobrevivência. Os clamidósporos são propágulos efetivos para o estabelecimento do fungo no solo e na rizosfera, pois são rústicos e não precisam de nutrientes adicionais (Kerry; Hirsch, 2011).

Purpureocillium lilacinum é outro fungo parasita facultativo que tem sido usado como agente biológico para o controle de nematoides-das-galhas. É espécie de ampla distribuição geográfica, observada pela primeira vez em associação com ovos de nematoides por Lysek (1976) e depois encontrada parasitando *M. incognita* no Peru (Jatala et al., 1979, 1981). As primeiras investigações com *P. lilacinum* como agente de controle biológico foram promissoras (Jatala, 1986). Contudo, isolados conhecidos como parasitas de ovos de nematoide e presentes em alta concentração não conseguiram controlar bem nematoides-das-galhas em sucessivos experimentos (Rodríguez-Kábana et al., 1984; Hewlett et al., 1988). É provável que uma série de fatores tenha contribuído para a inconsistência dos resultados, sobretudo a capacidade do fungo de se estabelecer

no solo (Hewlett et al., 1988), mas componentes genéticos também são importantes na determinação de níveis de especificidade patogênica contra diferentes populações de nematoides (Dunn et al., 1982; Stirling; West, 1991). No geral, há alguma inconsistência entre dados de experimentos em condições de estufa e aqueles realizados a campo (Kerry; Evans, 1996). Em várias pesquisas tem sido utilizado *P. lilacinum* junto com materiais orgânicos, tais como bagaços, resíduos de folhas e sementes, porém os resultados que indicam bom controle raramente se repetem no mesmo patossistema em diferentes localidades (Hallmann et al., 2009).

Pochonia chlamydosporia é fungo inócuo a seres humanos e a outros animais, e produz elevado número de clamidósporos; já *P. lilacinum*, por muitos anos, foi considerado pertencer ao gênero *Paecilomyces* e tratado como *P. lilacinus* (Luangsa-Ard et al., 2011), gênero esse que inclui fungos capazes de causar dermatites, infecções pulmonares e oculares (Khan et al., 2012; Todokoro et al., 2014; Trinh; Angarone, 2017), além de não produzir os tão desejados clamidósporos, que tanto auxiliam o estabelecimento de fungos no solo.

O conhecimento da dinâmica populacional de *P. chlamydosporia* em relação às populações de nematoides é essencial para o desenvolvimento de uma estratégia de controle biológico; contudo, as informações que formam a base para essa abordagem são difíceis de interpretar em razão de problemas de quantificação do fungo na rizosfera e da falta de uma relação simples que ligue a abundância do fungo à atividade nematicida. Existem várias metodologias para quantificação, usando meio seletivo, técnicas imunológicas e baseadas em PCR (Hirsch et al., 2001). Contudo, a quantificação de fungos filamentosos, tais como *P. chlamydosporia*, é difícil porque o fungo não é composto de uma estrutura única e simples de quantificar. Vários estágios de vida estão presentes, que incluem micélio, conídios e clamidósporos misturados. Numa comparação entre técnicas baseadas em PCR e plaqueamento seletivo, chegou-se à conclusão que as duas técnicas deveriam ser combinadas para serem mais precisas na quantificação do fungo (Mauchline et al., 2002).

PRODUTOS BIOLÓGICOS PARA O CONTROLE DE FITONEMATÓIDES

Em razão do crescente interesse no manejo sustentável de doenças, observou-se um grande esforço conjunto de empresas, instituições de pesquisa e governo para a viabilização de políticas públicas voltadas ao incentivo do uso de defensivos biológicos. De acordo com o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (Mapa),

a produção de bio defensivos no Brasil cresceu mais 70% no último ano, superando o crescimento do mercado global, que foi 17% (Brasil, 2019b). No Brasil, dos produtos biológicos à base de fungos ou bactérias atualmente registrados para controle de nematoides (Tabela 2), a maioria tem como princípio ativo bactérias (Brasil, 2019a). A produção e a formulação a partir de agentes fúngicos filamentosos permanecem problemáticas (Prabhu et al., 2007), mas tecnologias relativamente recentes permitiram a produção de preparações altamente concentradas que podem ser aplicadas com sucesso em escala de campo (Kiewnick, 2004, 2006, 2007; Kiewnick; Sikora, 2004, 2006b). A estirpe 251 de *P. lilacinum*, por exemplo, foi registrada para venda e tem sido comercializada sob uma série de nomes comerciais para o controle de nematoides em vários países (Environmental Protection Agency, 2005; Kiewnick; Sikora, 2006a).

A maioria dos produtos registrados (80%) são à base de bactérias, todos formulados utilizando bactérias do gênero *Bacillus* como ingrediente(s) ativo(s). As bactérias pertencem às espécies *Bacillus firmus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* e *Bacillus methylotrophicus*. Com relação aos fungos, apenas dois produtos estão registrados até o momento, um deles à base de *P. chlamydosporia* e dois à base de *P. lilacinum*. Os produtos registrados como promotores de crescimento não foram incluídos neste capítulo. Os bioprodutos, com algumas exceções, são indicados para todas as culturas, em razão da possibilidade de registro por alvo biológico, ou seja, quando se registra um produto contra o nematoide *M. incognita*, ele pode ser recomendado para qualquer cultura afetada por esse fitopatógeno. Se, por um lado, o registro por alvo biológico representa um avanço importante para o controle de doenças, principalmente para pequenos produtores em sistema de cultivo orgânico (que dispõem de poucas opções de produtos no mercado), por outro lado, no caso específico das bactérias para controle de nematoides, não se sabe se um determinado produto terá a mesma eficiência em diferentes culturas, pelo fato de que existe necessidade da ocorrência de associação positiva entre a bactéria, que é o ingrediente ativo do produto, e a planta na qual o produto será aplicado para que ocorra um controle eficiente. A associação positiva, como a colonização da raiz pela bactéria ou fungo, é particular para cada caso e, por isso, um microrganismo que coloniza e controla nematoides em determinada espécie vegetal pode não apresentar o mesmo desempenho em outras associações. Acredita-se que os níveis de eficiência dos produtos biológicos, já disponíveis, e de novas formulações em desenvolvimento, indicados para o controle de nematoides em diferentes culturas afetadas, ainda não tenham sido adequadamente estabelecidos e que tais subsídios serão mais estudados e propostos nos próximos anos. Para isso, serão necessárias pesquisas de laboratório, de casa de vegetação e de campo, e repetidas várias vezes ao longo do tempo, o que está começando a ser feito no Brasil.

Tabela 2. Produtos biológicos à base de bactérias e fungos registrados no Brasil para o controle de fitonematóides em outubro de 2019.

Produto	Antagonista	Nematoide	Cultura	Empresa
Bactérias				
Andril Prime	<i>Bacillus firmus</i>	<i>Meloidogyne javanica</i> <i>Pratylenchus brachyurus</i>	Todas	Bayer S.A.
Oleaje Prime	<i>B. firmus</i>	<i>M. javanica</i> <i>P. brachyurus</i>	Todas	Bayer S.A.
Votivo Prime	<i>B. firmus</i>	<i>M. javanica</i> <i>P. brachyurus</i>	Todas	Bayer S.A.
Onix	<i>Bacillus methylophilicus</i>	<i>M. javanica</i> <i>P. brachyurus</i>	Todas	Lab. de Biocontrole Farroupilha Ltda.
Onix OG	<i>B. methylophilicus</i>	<i>M. javanica</i>	Todas	Lab. de Biocontrole Farroupilha Ltda.
Quartzo	<i>B. subtilis</i> + <i>Bacillus licheniformis</i>	<i>Meloidogyne exigua</i> <i>Radopholus similis</i> <i>Meloidogyne graminicola</i> <i>Pratylenchus zaei</i> <i>P. brachyurus</i> <i>Meloidogyne incognita</i> <i>M. javanica</i>	Todas	FMC Química do Brasil Ltda.
Presence	<i>B. subtilis</i> + <i>B. licheniformis</i>	<i>P. brachyurus</i> <i>M. incognita</i>	Todas	FMC Química do Brasil Ltda.
Rizos	<i>B. subtilis</i>	<i>P. brachyurus</i> <i>M. javanica</i>	Todas	Lab. de Biocontrole Farroupilha Ltda.
Rizos OG	<i>B. subtilis</i>	<i>P. brachyurus</i> <i>M. javanica</i>	Soja (<i>Glycine max</i>) e todas as demais	Lab. de Biocontrole Farroupilha Ltda.
Nemacontrol	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	<i>P. brachyurus</i>	Soja	Simbiose Ind. e Com. de Fertilizantes e Insumos Microbiológicos
Clariva PN BR	<i>Pasteuria nishizawae</i>	<i>Heterodera glycines</i>	Todas	Syngenta Proteção de Cultivos Ltda.
Clariva PN	<i>P. nishizawae</i>	<i>H. glycines</i>	Todas	Syngenta Proteção de Cultivos Ltda.

Continua...

Tabela 2. Continuação.

Produto	Antagonista	Nematoide	Cultura	Empresa
Eficaz Nema	<i>B. amylolichefaciens</i>	<i>P. brachyurus</i>	Todas	Simbiose Ind. e Com. de Fertilizantes e Insumos Microbiológicos
No-Nema	<i>B. amylolichefaciens</i>	<i>M. incognita</i>	Todas	Biovalens Ltda.
PFC-Control	<i>B. amylolichefaciens</i>	<i>P. brachyurus</i>	Todas	Simbiose Ind. e Com. de Fertilizantes e Insumos Microbiológicos
Biobaci	<i>B. subtilis</i>	<i>Meloidogyne paranaensis</i> <i>Meloidogyne exigua</i> <i>M. javanica</i> <i>M. incognita</i>		Biovalens Ltda.
Fungos				
Rizotec	<i>Pochonia chlamydosporia</i>	<i>M. javanica</i>	Todas	Rizoflora Biotecnologia AS, Stoller
Nemat	<i>Purpureocillium lilacinum</i> (syn. <i>Paecilomyces lilacinus</i>)	<i>M. incognita</i> <i>M. javanica</i> <i>P. brachyurus</i>	Todas	Ballagro Agrotecnologia Ltda.
Unique	<i>P. lilacinum</i> (syn. <i>P. lilacinus</i>)	<i>M. incognita</i>	Todas	Ballagro Agrotecnologia Ltda.
Nemakill	<i>P. lilacinum</i> (syn. <i>P. lilacinus</i>)	<i>M. incognita</i>	Todas	Maneogene Agrocências S.A.
Purpureonyd FR 25	<i>P. lilacinum</i> (syn. <i>P. lilacinus</i>)	<i>M. incognita</i>	Todas	TZ Biotech Ltda.
Trichodermil DS	<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>P. brachyurus</i>	Todas	Koppert do Brasil Holding Ltda.
Trichodermil SC 1306	<i>T. harzianum</i>	<i>P. zaeae</i>	Todas	Koppert do Brasil Holding Ltda.
Diamond	<i>Trichoderma koningiopsis</i>	<i>M. incognita</i> <i>P. brachyurus</i> <i>Heterodera glycines</i>	Todas	Lab. de Bio Controle Farroupilha Ltda.

Fonte: Brasil (2019a).

De maneira geral, acredita-se que o controle biológico não deva ser tratado como um controle curativo isolado, e sim dentro de um contexto de manejo integrado, onde outros métodos, tais como rotação de culturas, aumento no teor de matéria orgânica do solo, utilização da resistência/tolerância genética, entre outros, devam ser utilizados de maneira combinada, de acordo com a realidade agrícola vigente e em prol do agronegócio brasileiro.

REFERÊNCIAS

- AALTEN, P. M.; VITOUR, D.; BLANVILLAIN, D.; GOWEN, S. R.; SUTRA, L. Effect of rhizosphere fluorescent *Pseudomonas* strains on plant-parasitic nematodes *Radopholus similis* and *Meloidogyne* spp. **Letters in Applied Microbiology**, v. 27, n. 6, p. 357-361, Dec.1998. DOI: 10.1046/j.1472-765X.1998.00440.x.
- ABAD, P.; CASTAGNONE-SERENO, P.; ENGLER, J. A.; FAVERY, B. Invasion, feeding and development. In: PERRY, R.; MOENS, M.; STARR, J. L. (Ed.). **Root-knot nematodes**. Wallingford: CABI International, 2009. p. 163-181. DOI: 10.1079/9781845934927.0163.
- ABAD, P.; GOUZY, J.; AURY, M. J.; CASTAGNONE-SERENO, P.; DANCHIN, E. G. J.; DELEURY, E.; PERFUS-BARBECH, L.; ANTHOUARD, V.; ARTIGUENAVE, F.; BLOK, V. C.; CAILLAUD, M. C.; COUTINHO, P. M.; SILVA, C.; DE LUCA, F.; DEAU, F.; ESQUIBET, M.; FLUTRE, T.; GOLDSTONE, J. V.; HAMAMOUCHE, N.; HEWEZI, T.; JAILLON, O.; JUBIN, C.; LEONETTI, P.; MAGLIANO, M.; MAIER, T. R.; MARKOV, G. V.; MCVEIGH, P.; PESOLE, G.; POULAIN, J.; ROBINSON-RECHAVI, M.; SALLET, E.; SÉGURENS, B.; STEINBACH, D.; TYTGAT, T.; UGARTE, E.; VAN GHELDER, C.; VERONICO, P.; BAUM, T. J.; BLAXTER, M.; BLEVE-ZACHEO, T.; DAVIS, E. L.; EWBANK, J. J.; FAVERY, B.; GRENIER, E.; HENRISSAT, B.; JONES, J. T.; LAUDET, V.; MAULE, A. G.; QUESNEVILLE, H.; ROSSO, M. N.; SCHIEX, T.; SMANT, G.; WEISSENBACH, J.; WINCKER, P. Genome sequence of the metazoan plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. **Nature Biotechnology**, v. 26, p. 909-915, July 2008. DOI: 10.1038/nbt.1482.
- ADAM, M.; HEUER, H.; HALLMANN, J. Bacterial antagonists of fungal pathogens also control root-knot nematodes by induced systemic resistance of tomato plants. **Plos One**, v. 9, n. 2, e90402, 2014. DOI: 10.1371/journal.pone.0090402.
- AFOLABI, P.; DAVIES, K. G.; O'SHEA, P. S. The electrostatic nature of the spore surface of *Pasteuria penetrans*, the bacterial parasite of root-knot nematodes. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 79, n. 3, p. 244-249, Sept. 1995. DOI: 10.1111/j.1365-2672.1995.tb03133.x.
- AL-RADDAD, A. M. Interaction of *Glomus mosseae* and *Paecilomyces lilacinus* on *Meloidogyne javanica* on tomato. **Mycorrhiza**, v. 5, n. 3, p. 233-236, Feb. 1995. DOI: 10.1007/s005720050066.
- ALVES, P. S. **Compatibilidade entre *Pochonia chlamydosporia* e *Trichoderma* spp. no controle de *Meloidogyne javanica* em tomateiro**. 2016. 65 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- ANKE, H.; STADLER, M.; MAYER, A.; STERNER, O. Secondary metabolites with nematocidal and antimicrobial activity from nematophagous fungi and Ascomycetes. **Canadian Journal of Botany**, v. 73, p. 932-939, 1995. DOI: 10.1139/b95-341.
- BAGYARAJ, D. J.; MANJUNATH, A.; REDDY, D. D. R. Interaction of vesicular arbuscular mycorrhiza with root knot nematodes in tomato. **Plant and Soil**, v. 51, n. 3, p. 397-403, Apr. 1979. DOI: 10.1007/BF02197786.

- BAKER, K. F.; COOK, R. J. **Biological control of plant pathogens**. St. Paul: American Phytopathological Society, 1974. 433 p.
- BARRON, G. L. **The nematode-destroying fungi**. Guelph: Canadian Biological Publications, 1977. 140 p. (Topics in mycobiology, 1).
- BEATTIE, G. A. Plant-associated bacteria: survey, molecular phylogeny, genomics and recent advances. In: GNANAMANICKAM, S. S. (Ed.). **Plant-associated bacteria**. Heidelberg: Springer, 2007. p. 1-56. DOI: 10.1007/1-4020-4538-7_1.
- BISHOP, A. H.; ELLAR, D. J. Attempts to culture *Pasteuria penetrans* *in vitro*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 1, n. 2, p. 101-104, 1991. DOI: 10.1080/09583159109355190.
- BISHOP, A. H.; GOWEN, S. R.; PEMBROKE, B.; TROTTER, J. R. Morphological and molecular characteristics of a new species of *Pasteuria* parasitic on *Meloidogyne ardenensis*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 96, n. 1, p. 28-33, Sept. 2007. DOI: 10.1016/j.jip.2007.02.008.
- BOKHARI, f. M. Efficacy of some *Trichoderma* species in the control of *Rotylenchulus reniformis* and *Meloidogyne javanica*. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 42, n. 4, p. 361-369, 2009. DOI: 10.1080/03235400601070520.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Agrofit**. 2019a. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 4 out. 2019.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Mercado de bio defensivos cresce mais de 70% no Brasil em um ano**. 2019b. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/noticias/feffmercado-de-bio defensivos-cresce-em-mais-de-50-no-brasil>>. Acesso em: 4 out. 2019.
- BRAVO, A.; GÓMEZ, I.; PORTA, H.; GARCÍA-GÓMEZ, B. I.; RODRIGUEZ-ALMAZAN, C.; SOBERÓN, M. 2012. Evolution of *Bacillus thuringiensis* cry toxins insecticidal activity. **Microbial Biotechnology**, v. 6, n. 1, p. 17-26, Jan. 2013. DOI: 10.1111/j.1751-7915.2012.00342.x.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A.; QUÉNÉHERVÉ, P. Enzyme phenotypes of *Meloidogyne* spp. populations. **Nematology**, v. 2, n. 6, p. 645-654, 2000. DOI: 10.1163/156854100509510.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; TIGANO, M. S.; JORGE, C. L.; TEIXEIRA, A. C. O.; CORDEIRO, M. C. Selection and polymorphism of *Pasteuria penetrans* isolates in relation to *Meloidogyne* spp. from coffee. **Nematology**, v. 6, n. 1, p. 37-47, 2004. DOI: 10.1163/156854104323072900.
- CASTILLO, J. D.; LAWRENCE, K. S.; KLOEPPER, W. Biocontrol of the reniform nematode by *Bacillus firmus* GB-126 and *Paecilomyces lilacinus* 251 on cotton. **Plant Disease**, v. 97, n. 7, p. 967-976, July 2013. DOI: 10.1094/PDIS-10-12-0978-RE.
- CETINTAS, R.; DICKSON, D. W. Persistence and suppressiveness of *Pasteuria penetrans* to *Meloidogyne arenaria* race 1. **Journal of Nematology**, v. 36, n. 4, p. 540-549, Dec. 2004.
- CHARLES, L.; CARBONNE, I.; DAVIES, K. G.; BIRD, D.; BURKE, M.; KERRY, B. R.; OPPERMAN, C. H. Phylogenetic analysis of *Pasteuria penetrans* using multiple genetic loci. **Journal of Bacteriology**, v. 187, n. 16, p. 5700-5708, Aug. 2005. DOI: 10.1128/JB.187.16.5700-5708.2005.
- CHEN, S. **Fungal antagonists of the soybean cyst nematode *Heterodera glycines***. 1994. 169 f. Dissertation (Doctor) – University of Florida, Gainesville.
- CHEN, S.; DICKSON, D. W.; WHITTY, E. B. Response of *Meloidogyne* spp. to *Pasteuria penetrans*, fungi, and cultural practices in tobacco. **Journal of Nematology**, v. 26, p. 620-625, Dec. 1994.
- CHEN, Z. X.; DICKSON, D. W. Minimal growth temperature of *Pasteuria penetrans*. **Journal of Nematology**, v. 29, p. 635-639, Dec. 1997.

- CHEN, Z. X.; DICKSON, D. W. Review of *Pasteuria penetrans*: biology, ecology, and biological control potential. **Journal of Nematology**, v. 30, n. 3, p. 313-340, Sept. 1998.
- COFCEWICZ, E. T.; MEDEIROS, C. A. B.; CARNEIRO, R. M. D. G.; PIEROBOM, C. R. Interação dos fungos micorrízicos arbusculares *Glomus etunicatum* e *Gigaspora margarita* e o nematóide das galhas *Meloidogyne javanica* em tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, n. 1, p. 65-70, mar. 2001. DOI: 10.1590/S0100-41582001000100011.
- CORRÊA, B. O.; MOURA, A. B.; GOMES, C. B.; SOMAVILLA, L.; ROCHA, D. J. A.; ANTUNES, I. F. Potencial da microbiolização de sementes de feijão com rizobactérias para o controle de nematóide das galhas. **Nematropica**, v. 42, n. 2, p. 343-350, Dec. 2012.
- CROW, W. T.; LUC, J. E.; GIBLIN-DAVIS, R. M. Evaluation of Econem™, a formulated *Pasteuria* sp. bionematicide, for management of *Belonolaimus longicaudatus* on Golf Course Turf. **Journal of Nematology**, v. 43, n. 2, p. 101-109, Jan. 2011.
- DABABAT, A.; HAUSCHILD, R.; SIKORA, R. A. Use of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* for the biological control of *Meloidogyne incognita* on tomato. **Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences**, v. 71, p. 953-961, 2006.
- DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L. G. de; LOPES, E. A.; SILVA, M. de C. S. da; KASUYA, M. C. M.; FERRAZ, S. *Pochonia chlamydosporia* promotes the growth of tomato and lettuce plants. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 37, n. 4, p. 417-423, Oct./Dec. 2015. DOI: 10.4025/actasciagron.v37i4.25042.
- DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A.; PEREIRA, O. L.; ZOOCA, R. J.; FERRAZ, S. Screening of *Pochonia chlamydosporia* Brazilian isolates as biocontrol agents of *Meloidogyne javanica*. **Crop Protection**, v. 42, p. 102-107, Dec. 2012. DOI: 10.1016/j.cropro.2012.06.002.
- DARBAN, D. A.; PEMBROKE, B.; GOWEN, S. R. The relationships of time and temperature to body weight and numbers of endospores in *Pasteuria penetrans*-infected *Meloidogyne javanica* females. **Nematology**, v. 6, n. 1, p. 33-36, 2004. DOI: 10.1163/156854104323072892.
- DAVIES, K. G.; DANKS, C. Carbohydrate/protein interactions between the cuticle of infective juveniles of *Meloidogyne incognita* and spores of the obligate hyperparasite *Pasteuria penetrans*. **Nematologica**, v. 39, n. 1-4, p. 53-64, 1993. DOI: 10.1163/187529293X00033.
- DAVIES, K. G.; DANKS, C. Interspecific differences in the nematode surface coat between *Meloidogyne incognita* and *M. arenaria* related to the adhesion of *Pasteuria penetrans*. **Parasitology**, v. 105, n. 3, p. 475-480, Dec. 1992. DOI: 10.1017/S0031182000074655.
- DAVIES, K. G.; LAIRD, V.; KERRY, B. R. The mobility, development and infection of *Meloidogyne incognita* encumbered with spores of the obligate hyperparasite *Pasteuria penetrans*. **Revue de Nématologie**, v. 14, n. 4, p. 611-618, 1991.
- DAVIES, K. G.; ROBINSON, M. P.; LAIRD, V. Proteins on the surface of spores of *Pasteuria penetrans* and their involvement in attachment to the cuticle of second-stage juveniles of *Meloidogyne incognita*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 59, n. 1, p. 18-23, Jan. 1992. DOI: 10.1016/0022-2011(92)90106-E.
- DE LEIJ, F. A. A. M.; KERRY, B. R. The nematophagous fungus, *Verticillium chlamydosporium* Goddard, as a potential biological control agent for *Meloidogyne arenaria* (Neal) Chitwood. **Revue de Nématologie**, v. 14, p. 157-164, 1991.
- DIEDHIU, P. M.; HALLMANN, J.; OERKE, E.-C.; DEHNE, H.-W. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and a non-pathogenic *Fusarium oxysporum* on *Meloidogyne incognita* infestation of tomato. **Mycorrhiza**, v. 13, n. 4, p. 199-204, Aug. 2003. DOI: 10.1007/s00572-002-0215-4.
- DUNN, M. T.; SAYRE, R. M.; CARRELL, A.; WERGIN, W. P. Colonization of nematode eggs by *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson as observed with scanning electron microscope. **Scanning Electron Microscopy**, v. 3, p. 1351-1357, 1982.

- DURHAM, M. L. **Characterization of root colonization by the biocontrol bacterium *Bacillus firmus* strain GB126**. 2013. 73 f. Thesis (Master of Science) – Auburn University, Auburn, Alabama.
- EISENBACK, J. D.; TRIANTAPHYLLOU, H. H. Root-knot nematode: *Meloidogyne* spp. and races. In: NICKLE, W. R. (Ed.). **Manual of Agricultural Nematology**. New York: Marcel Dekker, 1991. p. 191-274.
- ELBANNA, K.; GAMAL-ELDIN, H.; ABUZAED, E. Characterization of Egyptian fluorescent rhizosphere pseudomonad isolates with high nematocidal activity against the plant parasitic nematode *Meloidogyne Incognita*. **Journal of Biofertilizers & Biopesticides**, v. 1, n. 1, 2011. DOI:10.4172/2155-6202.1000102.
- ELSEN, A.; GERVACIO, D.; SWENNEN, R.; DE WAELE, D. AMF-induced biocontrol against plant parasitic nematodes in *Musa* sp.: a systemic effect. **Mycorrhiza**, v. 18, n. 5, p. 251-256, July 2008. DOI: 10.1007/s00572-008-0173-6.
- ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. *Paecilomyces lilacinus* strain 251; exemption from the requirement of a tolerance. **United States Federal Register**, v. 70, p. 19278-19283, 2005.
- FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R. **Manejo sustentável de fitonematoides**. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2010. 304 p.
- FREIRE, F. C. O.; BRIDGE, J. Parasitism of eggs, females and juveniles of *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* and *Verticillium chlamydosporium*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 10, p. 577-596, 1985.
- FREITAS, L. G. de. **The effects of soil solarization, organic amendment, and fumigant nematicides on *Pasteuria penetrans* and its infectivity to *Meloidogyne arenaria* race 1 in tomato**. 1997. 156 f. Dissertation (Doctor of Philosophy) – University of Florida, Gainesville.
- FREITAS, L. G.; ALMEIDA, A. M. S.; CARMO, O. N.; O'ANGIERI FILHO, C. N.; SILVA, G. S.; CARNEIRO, N. Dispersão de *Pasteuria penetrans* no campo com jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*) infestado por *Meloidogyne javanica*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 24, p. 345-345, 1999.
- FREITAS, L. G.; CARNEIRO, R. M. D. G. Controle biológico de fitonematoides por *Pasteuria* spp. In: MELO, I. S. de; AZEVEDO, J. L. de (Ed.). **Controle biológico**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. v. 2, p. 91-126.
- FREITAS, L. G.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; ZOOCA, R. J. F.; PODESTÁ, G. S.; FERRAZ, S. Controle biológico de nematoides: estudo de casos. In: ZAMBOLIM, L.; PICANÇO, M. C. (Ed.). **Controle biológico de pragas e doenças exemplos práticos**. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2009a. p. 41-82.
- FREITAS, L. G.; FERRAZ, S.; MUCHOVEY, J. J. Effectiveness of different isolates of *Paecilomyces lilacinus* and an isolate of *Cylindrocarpon destructans* on the control of *Meloidogyne javanica*. **Nematropica**, v. 25, n. 2, p. 109-115, Dec. 1995.
- FREITAS, L. G.; OLIVEIRA, R. D. L.; FERRAZ, S. **Introdução à nematologia**. 3. ed. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2006. 83 p.
- FREITAS, L. G.; PODESTA, G. S.; FERRAZ, S.; COUTINHO, M. M. Supressividade de Solo a *Meloidogyne* spp. por *Pasteuria penetrans* nos Estados do Maranhão e Santa Catarina. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009b. p. 147-166.
- GENG, C.; NIE, X.; TANG, Z.; ZHANG, Y.; LIN, J.; SUN, M.; PENG, D. A novel serine protease, Sep1, from *Bacillus firmus* DS-1 has nematocidal activity and degrades multiple intestinal-associated nematode proteins. **Nature-Scientific Reports**, v. 6, n. 25012, Apr. 2016. DOI: 10.1038/srep25012.
- GERBER, J. F.; WHITE, J. H. **Materials and methods for the efficient production of *Pasteuria***. Int. C12N 1/20. U. S. n. 6.919.197, 20 Jan. 2004, 19 July 2005.

- GIBLIN-DAVIS, R. M.; WILLIAMS, D. S.; BEKAL, S.; DICKSON, D. W.; BRITO, J. A.; BECKER, J. O.; PRESTON, J. F. *Candidatus Pasteuria usgae* sp nov., an obligate endoparasite of the phytoparasitic nematode *Belonolaimus longicaudatus*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 53, n. 1, p. 197-200, 2003. DOI: 10.1099/ijs.0.02292-0.
- GOMES, C. B.; FREITAS, L. G.; NETO, A. R. Efeito da matéria orgânica sobre a produção de endósporos de *Pasteuria penetrans* em raízes de tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 23, p. 305, 1998.
- GOSWAMI, J.; PANDEY, R. K.; TEWARI, J. P.; GOSWAMI, B. K. Management of root knot nematode on tomato through application of fungal antagonists, *Acremonium strictum* and *Trichoderma harzianum*. **Journal of Environmental Science and Health**, Part B: pesticides, food contaminants, and agricultural wastes, v. 43, n. 3, p. 237-240, 2008. DOI: 10.1080/03601230701771164.
- GOUVEIA, A. de S.; MONTEIRO, T. S. A.; VALADARES, S. V.; SUFIATE, b. I.; FREITAS, L. G. de; RAMOS, H. J. de O.; QUEIROZ, J. H. de. Understanding how *Pochonia chlamydosporia* increases phosphorus availability. **Geomicrobiology Journal**, v. 36, n. 8, p. 747-751, 2019. DOI: 10.1080/01490451.2019.1616857.
- HALLMANN, J.; DAVIES, K. G.; SIKORA, R. Biological control using microbial pathogens, endophytes and antagonists. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. (Ed.). **Root-knot nematodes**. Cambridge: CABI, 2009. p. 380-411. DOI: 10.1079/9781845934927.0380.
- HALLMANN, J.; SIKORA, R. A. Influence of *Fusarium oxysporum*, a mutualistic fungal endophyte on *Meloidogyne incognita* of tomato. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 101, n. 1, p. 475-481, 1994.
- HALLMANN, J.; SIKORA, R. A. Toxicity of fungal endophyte secondary metabolites to plant-parasitic nematodes and soil-borne plant pathogenic fungi. **European Journal of Plant Pathology**, v. 102, n. 2, p. 155-162, Jan. 1996. DOI: 10.1007/BF01877102.
- HATZ, B.; DICKSON, D. W. Effect of temperature on attachment, development, and interactions of *Pasteuria penetrans* on *Meloidogyne arenaria*. **Journal of Nematology**, v. 24, n. 4, p. 512-521, Dec. 1992.
- HAYASHI, A.; FUJIOKA, S.; NUKINA, M.; KAWANO, T.; SHIMADA, A.; KIMURA, Y. Fumiquinones A and B, nematicidal quinones produced by *Aspergillus fumigatus*. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v. 71, n. 7, p. 1697-1702, 2007. DOI: 10.1271/bbb.70110.
- HEWLETT, T. E.; DICKSON, D. W.; MITCHELL, D. J.; KANNWISCHER-MITCHELL, M. E. Evaluation of *Paecilomyces lilacinus* as a biocontrol agent of *Meloidogyne javanica* on tobacco. **The Journal of Nematology**, v. 20, n. 4, p. 578-584, Oct. 1988.
- HEWLETT, T. E.; GERBER, J. F.; SMITH, K. S. *In vitro* culture of *Pasteuria penetrans*. In: COOK, R.; HUNT, D. J. (Ed.). **Nematology monographs and perspectives**. Leiden: Brill, 2004. v. 2, p. 175-185.
- HEWLETT, T. E.; GRISWOLD, S. T.; SMITH, K. S. Biological control of *Meloidogyne incognita* using *in vitro* produced *Pasteuria penetrans* in a microplot study. **Journal of Nematology**, v. 38, p. 274, 2006. Abstract.
- HIRSCH, P. R.; ATKINS, S. D.; MAUCLINE, T. H.; MORTON, C. O.; DAVIES, K. G.; KERRY, B. R. Methods for studying nematophagous fungus *Verticillium chlamydosporium* in the root environment. **Plant and Soil**, v. 232, n. 1-2, p. 21-30, May 2001. DOI: 10.1023/A:1010373717186.
- HUNT, D. J.; HANDOO, Z. A. Taxonomy, identification and principal species. In: PERRY, R.; MOENS, M.; STARR, J. L. (Ed.). **Root-knot nematodes**. Wallingford: CABI, 2009. p. 55-88. DOI: 10.1079/9781845934927.0055.
- ISLAM, M. N.; ALI, M. B.; FROZ, M. J.; MONDOL, A. T. M. A. I.; JAHAN, M. A. H. S. Integrated management of root-knot (*Meloidogyne* spp.) disease of tomato using antagonistic isolates of *Trichoderma harzianum* and its combination with organic soil amendment. **Journal of Subtropical Agricultural Research and Development**, v. 3, p. 78-81, 2005.

JAFFEE, B. A.; PHILLIPS, R.; MULDOON, A. E.; MANGEL, M. Density-dependent host-pathogen dynamics in soil microcosms. **Ecology**, v. 73, n. 2, p. 495-506, Apr. 1992. DOI: 10.2307/1940755.

JANG, J. Y.; CHOI, Y. H.; SHIN, T. S.; KIM, T. H.; SHIN, K.-S.; PARK, H. W.; KIM, Y. H.; KIM, Y. H.; CHOI, G. J.; JANG, K. S.; CHA, B.; KIM, I. S.; MYUNG, E. J.; KIM, J.-C. Biological control of *Meloidogyne incognita* by *Aspergillus niger* F22 producing oxalic acid. **PLoS ONE**, v. 11, n. 6, e0156230, 2016. DOI: 10.1371/journal.pone.0156230.

JANSSON, H. B.; NORDBRING-HERTZ, B. Infection events in the fungus-nematode system. In: POINAR JR., G. O.; JANSSON, H.-B. (Ed.). **Diseases of nematodes**. Boca Raton: CRC Press, 1988. v. 2, p. 59-72.

JATALA, P. Biological control of plant-parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathology**, v. 24, p. 453-489, Sept. 1986. DOI: 10.1146/annurev.phyto.24.1.453.

JATALA, P.; KALTENBACH, R.; BOCANGEL, M. Biological control of *Meloidogyne incognita acrita* and *Globodera pallida* on potatoes. **Journal of Nematology**, v. 11, p. 303, 1979. Abstract.

JATALA, P.; SALAS, R.; KALTENBACH, R.; BOCANGEL, M. Multiple application and long-term effect of *Paecilomyces lilacinus* in controlling *Meloidogyne incognita* under field conditions. **Journal of Nematology**, v. 13, p. 445, 1981. Abstract.

JAYAKUMAR, J. *Streptomyces avermitilis* as a biopesticides for the management of root knot nematode, *Meloidogyne incognita* in tomato. **Karnataka Journal of Agricultural Sciences**, v. 22, n. 3, p. 564-566, Jan. 2009.

JONHATAN, E. I.; BARKER, K. R.; ABDEL-ALIM, F. F.; VRAIN, T. C.; DICKSON, D. W. Biological control of *Meloidogyne incognita* on tomato and banana with rhizobacteria, actinomycetes and *Pasteuria penetrans*. **Nematropica**, v. 30, n. 2, p. 231-240, Dec. 2000.

KASUMIMOTO, T.; IKEDA, R.; KAWADA, H. Dose response of *Meloidogyne incognita* infected cherry tomatoes to application of *Pasteuria penetrans*. **Japanese Journal of Nematology**, v. 23, n. 1, p. 10-18, 1993. DOI: 10.3725/jjn1993.23.1_10.

KERRY, B. R. Rhizosphere interactions and the exploitation of microbial agents for the biological control of plant-parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathology**, v. 38, p. 423-441, Sept. 2000. DOI: 10.1146/annurev.phyto.38.1.423.

KERRY, B. R.; EVANS, K. New strategies for the management of plant-parasitic nematodes. In: HALL, R. (Ed.). **Principles and practice of managing soilborne plant pathogens**. St Paul: APS Press, 1996. p. 134-152.

KERRY, B. R.; HIRSCH, P. R. Ecology of *Pochonia chlamydosporia* in the rhizosphere at the population, whole organism and molecular scales. In: DAVIES, K.; SPIEGEL, Y. (Ed.). **Biological control of plant-parasitic nematodes**. New York: Springer, 2011. p. 171-182. DOI: 10.1007/978-1-4020-9648-8_7.

KERRY, B. R.; JAFFEE, B. A. Fungi as biological control agents for plant parasitic nematodes. In: WICKLOW, D. T.; SODERSTROM, B. E. (Ed.). **The mycota: a comprehensive treatise on fungi as experimental systems for basic applied research: environmental and microbial relationships**. Berlin: Springer, 1997. v. 4, p. 203-218.

KERRY, B. R.; KIRKWOOD, I. A.; DE LEIJ, F. A. A. M.; BARBA, J.; LEIJDENS, M. B.; BROOKES, P. C. Growth and survival of *Verticillium chlamydosporium* Goddard, a parasite of nematodes in soil. **Biocontrol Science and Technology**, v. 3, n. 3, p. 355-365, 1993. DOI: 10.1080/09583159309355290.

KERRY, B. R.; SIMON, A.; ROVIRA, A. D. Observations on the introduction of *Verticillium chlamydosporium* and other parasitic fungi into soil for control of the cereal cyst-nematode *Heterodera avenae*. **Annals of Applied Biology**, v. 105, n. 3, p. 509-516, Dec. 1984. DOI: 10.1111/j.1744-7348.1984.tb03077.x.

- KHAN, A.; WILLIAMS, K. L.; NEVALAINEN, H. K. M. Effects of *Paecilomyces lilacinus* protease and chitinase on the eggshell structures and hatching of *Meloidogyne javanica* juveniles. **Biological Control**, v. 31, n. 3, p. 346-352, Nov. 2004. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2004.07.011.
- KHAN, Z.; AHMAD, S.; AL-GHIMLAS, F.; AL-MUTAIRI, S.; JOSEPH, L.; CHANDY, R.; SUTTON, D. A.; GUARRO, J. *Purpureocillium lilacinum* as a cause of cavitory pulmonary disease: a new clinical presentation and observations on atypical morphologic characteristics of the isolate. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 50, p. 1800-1804, 2012. DOI: 10.1128/JCM.00150-12.
- KIEWNICK, S. Biological control of plant-parasitic nematodes with *Paecilomyces lilacinus*, strain 251. **IOBC/WPRS Bulletin**, v. 27, p. 133-136, 2004.
- KIEWNICK, S. Importance of multitrophic interactions for the efficacy of *Paecilomyces lilacinus* strain 251 to control root-knot nematodes. **Journal of Nematology**, v. 39, n. 1, p. 72, Feb. 2007.
- KIEWNICK, S. Multitrophic interactions of *Paecilomyces lilacinus* strain 251 in the rhizosphere of host and non-host plants. **IOBC/WPRS Bulletin**, v. 29, p. 53-61, 2006.
- KIEWNICK, S.; SIKORA, R. A. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* strain 251. **Biological Control**, v. 38, n. 2, p. 179-187, Aug. 2006a. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2005.12.006.
- KIEWNICK, S.; SIKORA, R. A. Optimizing the efficacy of *Paecilomyces lilacinus* (strain 251) for the control of root-knot nematodes. **Communications Applied Biological Science**, v. 69, n. 3, p. 373-380, 2004.
- KIEWNICK, S.; SIKORA, R. Evaluation of *Paecilomyces lilacinus* strain 251 for the biological control of the northern root-knot nematode *Meloidogyne hapla* Chitwood. **Nematology**, v. 8, n. 1, p. 69-78, Jan. 2006b. DOI: 10.1163/156854106776179926.
- KIMURA, Y.; TANI, S.; HAYASHI, A.; OHTANI, K.; FUJIOKA, S.; KAWANO, T.; SHIMADA, A. Nematicidal activity of 5-hydroxymethyl-2-furoic acid against plant-parasitic nematodes. **Zeitschrift Fur Naturforschung C**, v. 62, n. 3-4, p. 234-238, Mar./Apr. 2007. DOI: 10.1515/znc-2007-3-413.
- LARRIBA, E.; JAIME, M. D. L. A.; NISLOW, C.; MARTÍN-NIETO, J.; LOPEZ-LLORCA, L. V. Endophytic colonization of barley (*Hordeum vulgare*) roots by the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* reveals plant growth promotion and a general defense and stress transcriptomic response. **Journal of Plant Research**, v. 128, n. 4, p. 665-678, July 2015. DOI: 10.1007/s10265-015-0731-x.
- LEE, Y. S.; KIM, K. Y. Antagonistic potential of *Bacillus pumilus* L1 against root-knot nematode, *Meloidogyne arenaria*. **Journal of Phytopathology**, v. 164, n. 1, p. 29-39, Jan. 2016. DOI: 10.1111/jph.12421.
- LI, G.-H.; ZHANG, K.-Q. Nematode-toxic fungi and their nematicidal metabolites. In: ZHANG, K.-Q.; HYDE, K. D. (Ed.). **Nematode-trapping fungi**. New York: Springer, 2014. p. 313-375. DOI: 10.1007/978-94-017-8730-7_7.
- LI, X.-Q.; WEI, J.-Z.; TAN, A.; AROJAN, R. V. Resistance to root-knot nematode in tomato roots expressing a nematicidal *Bacillus thuringiensis* crystal protein. **Plant Biotechnology Journal**, v. 5, n. 4, p. 455-464, July 2007. DOI: 10.1111/j.1467-7652.2007.00257.x.
- LOPEZ-LLORCA, L. V.; OLIVARES-BERNABEU, C.; SALINAS, J.; JANSSON, H.-B.; KOLATTUKUDY, P. E. Pre-penetration events in fungal parasitism of nematode eggs. **Mycological Research**, v. 106, n. 4, p. 499-506, Apr. 2002. DOI: 10.1017/S0953756202005798.
- LUANGSA-ARD, J.; HOUBRAKEN, J.; DOORN, T. van; HONG, S.-B.; BORMAN, A. M.; HYWEL-JONES, N. L.; SAMSON, R. A. *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 321, n. 2, p. 141-149, Aug. 2011. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2011.02322.x.

- LUDWIG, J.; MOURA, A. B.; GOMES, C. B. Potencial da microbiolização de sementes de arroz com rizobactérias para o biocontrole do nematoide das galhas. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, n. 3, p. 264-268, maio/jun. 2013. DOI: 10.1590/S1982-56762013005000007.
- LYSEK, H. Autodehelminthization of soil in lowland deciduous forests. **Universitatis Palackianae Olomucensis Facultatis Medicae**, v. 41, p. 73-106, 1976.
- MA, L.; CAO, Y. H.; CHENG, M. H.; HUANG, Y.; MO, M. H.; WANG, Y.; YANG, J. Z.; YANG, F. X. Phylogenetic diversity of bacterial endophytes of *Panax notoginseng* with antagonistic characteristics towards pathogens of root-rot disease complex. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 103, n. 2, p. 299-312, Feb. 2013. DOI: 10.1007/s10482-012-9810-3.
- MALLIDIS, C. G.; SCHOLEFIELD, J. Relation of the heat resistance of bacterial spores to chemical composition and structure. I. Relation to core components. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 62, n. 1, p. 65-69, Jan. 1987. DOI: 10.1111/j.1365-2672.1987.tb02381.x.
- MANKAU, R.; IMBRIANI, J. L. The life cycle of an endoparasite in some tylenchid nematodes. **Nematologica**, v. 21, n. 1, p. 89-94, 1975. DOI: 10.1163/187529275X00383.
- MANZANILLA-LÓPEZ, R. H.; ESTEVES, I.; POWERS, S. J.; KERRY, B. R. Effects of crop plants on abundance of *Pochonia chlamydosporia* and other fungal parasites of root-knot and potato cyst nematodes. **Annals of Applied Biology**, v. 159, n. 1, p. 118-129, July 2011. DOI: 10.1111/j.1744-7348.2011.00479.x.
- MANZANILLA-LÓPEZ, R. H.; ESTEVES, I.; FINETTI-SIALER, M. M.; HIRSCH, P. R.; WARD, E.; DEVONSHIRE, J.; HIDALGO-DÍAZ, L. *Pochonia chlamydosporia*: advances and challenges to improve its performance as a biological control agent of sedentary endo-parasitic nematodes. **Journal of Nematology**, v. 45, n. 1, p. 1-7, 2013.
- MARIUTTO, M.; ONGENA, M. Molecular patterns of rhizobacteria involved in plant immunity elicitation. In: BAIS, H.; SHERRIER, J. (Ed.). **Plant microbe interaction**. [S.l.]: Academic Press, 2015. p. 21-56. (Advances in botanical research, v. 75). DOI: 10.1016/bs.abr.2015.07.002.
- MATEILLE, T.; DUPONNOIS, R.; DIOP, M. T. Influence des facteurs telluriques abiotiques et de la plante hôte sur l'infection des nématodes phytoparasites du genre *Meloidogyne* par l'actinomycète parasitoïde *Pasteuria penetrans*. **Agronomie**, v. 15, n. 9-10, p. 581-591, 1995. DOI: 10.1051/agro:19950907.
- MAUCLINE, T. H.; KERRY, B. R.; HIRSCH, P. R. Quantification in soil and the rhizosphere of the nematophagous fungus *Verticillium chlamydosporia* by competitive PCR and comparison with selective plating. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 4, p. 1846-1853, Apr. 2002. DOI: 10.1128/AEM.68.4.1846-1853.2002.
- MEDEIROS, H. A. de; ARAÚJO FILHO, J. V. de; FREITAS, L. G. de; CASTILLO, P.; RUBIO, M. B.; HERMOSA, R.; MONTE, E. Tomato progeny inherit resistance to the nematode *Meloidogyne javanica* linked to plant growth induced by the biocontrol fungus *Trichoderma atroviride*. **Scientific Reports**, v. 7, article number 40216, 2017. DOI: 10.1038/srep40216.
- MEDEIROS, H. A. de; RESENDE, R. S.; FERREIRA, F. C.; FREITAS, L. G.; RODRIGUES, F. Á. Induction of resistance in tomato against *Meloidogyne javanica* by *Pochonia chlamydosporia*. **Nematoda**, v. 2, 2015. DOI: 10.4322/nematoda.10015.
- MENNAN, S.; CHEN, S. Y.; MELAKEBERHAN, H. Effects of *Hirsutella minnesotensis* and N-Viro Soil (R) on populations of *Meloidogyne hapla*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 17, n. 3, p. 233-246, 2007. DOI: 10.1080/09583150701211343.
- MENNAN, S.; CHEN, S. Y.; MELAKEBERHAN, H. Suppression of *Meloidogyne hapla* populations by *Hirsutella minnesotensis*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 16, n. 2, p. 181-193, 2006. DOI: 10.1080/09583150500258610.

- MOENS, M.; PERRY, R. N.; STARR, J. L. *Meloidogyne* species – a diverse group of novel and important plant parasites. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. (Ed.). **Root-knot nematodes**. Wallingford: CAB International, 2009. p. 1-17. DOI: 10.1079/9781845934927.0001.
- MOGHADDAM, M. R.; MOGHADDAM, E. M.; RAVARI, S. B.; ROUHANI, H. The nematicidal potential of local *Bacillus* species against the root-knot nematode infecting greenhouse tomatoes. **Biocontrol Science and Technology**, v. 24, n. 3, p. 279-290, Feb. 2014. DOI: 10.1080/09583157.2013.858100.
- MOHAMED, Z. K.; EL-SAYED, S. A.; RADWAN, T. E. E.; ABD EL-WAHAB, G. S. Potency evaluation of *Serratia marcescens* and *Pseudomonas fluorescens* as Biocontrol agents for Root-Knot Nematodes in Egypt. **Journal of Applied Sciences Research**, v. 4, n. 1, p. 93-102, Jan. 2009.
- MOHANTY, K. C.; SAHOO, N. K. Prospects of mycorrhizae as potential nematode antagonist. In: TRIVEDI, P. C. (Ed.). **Advances in nematology**. Rajasthan: Scientific Publishers, 2003. p. 317.
- MONTEIRO, T. S. A. **Ação combinada de *Pochonia chlamydosporia* e outros microrganismos no controle do nematoide de galhas e no desenvolvimento vegetal**. 2017. 100 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- MONTEIRO, T. S. A.; VALADARES, S. V.; MELLO, I. N. K. de; MOREIRA, B. C.; KASUYA, M. C. M.; ARAÚJO, J. V. de; FREITAS, L. G. de. Nematophagus fungi increasing phosphorus uptake and promoting plant growth. **Biological Control**, v. 123, p. 71-75, Aug. 2018. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2018.05.003.
- MORGAN-JONES, G.; GODOY, G.; RODRÍGUEZ-KÁBANA, R. *Verticillium chlamydosporium* fungal parasite of *Meloidogyne arenaria* females. **Nematropica**, v. 11, p. 115-120, 1982.
- MORGAN-JONES, G.; WHITE, J. F.; RODRÍGUEZ-KÁBANA, R. Phytonematode pathology: ultrastructural studies. I. Parasitism of *Meloidogyne arenaria* eggs by *Verticillium chlamydosporium*. **Nematropica**, v. 13, n. 2, p. 245-260, Dec. 1983.
- O'BRIEN, P. C. Studies on parasitism of *Meloidogyne javanica* by *Bacillus penitans*. **Journal of Nematology**, v. 12, n. 4, p. 234, 1980.
- OLIVEIRA, D. F.; CAMPOS, V. P.; AMARAL, D. R.; NUNES, A. S.; PANTALEÃO, R. A.; COSTA, D. A. Selection of rhizobacteria able to produce metabolites active against *Meloidogyne exigua*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 119, n. 4, p. 477-479, Dec. 2007. DOI: 10.1007/s10658-007-9176-y.
- OLIVEIRA, D. F.; SANTOS JÚNIOR, H. M. dos; NUNES, A. S.; CAMPOS, V. P.; PINHO, R. S. C. de; GAJO, G. Purification and identification of metabolites produced by *Bacillus cereus* and *B.subtilis* active against *Meloidogyne exigua*, and their in silico interaction with a putative phosphoribosyltransferase from *M. incognita*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, n. 2, p. 525-538, June 2014. DOI: 10.1590/0001-3765201402412.
- OOSTENDORP, M.; DICKSON, D. W.; MITCHELL, D. J. Population development of *Pasteuria penetrans* on *Meloidogyne arenaria*. **Journal of Nematology**, v. 23, n. 1, p. 58-64, Jan. 1991.
- OOSTENDORP, M.; DICKSON, D. W.; MITCHELL, D. J. Host range and ecology of isolates of *Pasteuria* spp. from the southeastern United States. **Journal of Nematology**, v. 22, n. 4, p. 525-531, Oct. 1990.
- PADGHAM, J. L.; SIKORA, R. A. Biological control potential and modes of action of *Bacillus megaterium* against *Meloidogyne graminicola* on rice. **Crop Protection**, v. 26, n. 7, p. 971-977, July 2007. DOI: 10.1016/j.cropro.2006.09.004.
- PENG, D.; CHAI, L.; WANG, F.; ZHANG, F.; RUAN, L.; SUN, M. Synergistic activity between *Bacillus thuringiensis* Cry6Aa and Cry55Aa toxins against *Meloidogyne incognita*. **Microbial Biotechnology**, v. 4, n. 6, p. 794-798, Nov. 2011. DOI: 10.1111/j.1751-7915.2011.00295.x.
- PERSMARK, L.; BANCK, A.; JANSSON, H. B. Population dynamics of nematophagous fungi and nematodes in an arable soil: vertical and seasonal fluctuations. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 28, n. 8, p. 1005-1014, Aug. 1996. DOI: 10.1016/0038-0717(96)00060-0.

PERSMARK, L.; NORDBRING-HERTZ, B. Conidial trap formation of nematode-trapping fungi in soil and soil extracts. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 22, n. 4, p. 313-323, Apr. 1997. DOI: 10.1016/S0168-6496(97)00005-6.

POTTER, B.; CHEN, S.; GLOGOZA, P.; MILLER, R. **A 2014 multi-site field study on the effects of Clariva seed treatment on soybean yield and Soybean Cyst Nematode reproduction**. [S. l.]: University of Minnesota, Extension Service Document, 2015. 4 p.

PRABHU, S.; KUMAR, S.; SUBRAMANIAN, S. Mass production and commercial formulation of *Paecilomyces lilacinus*. **Annals of Plant Protection Sciences**, v. 14, p. 444-447, Dec. 2007.

PREVIC, E. P.; COX, R. J. **Production of endospores from *Pasteuria* by culturing with explanted tissue from nematodes**. Int. C12N 3/00. U. S. n. 5.084.954, 14 Oct. 1988, 10 Mar. 1992.

RAVARI, S. B.; MOGHADDAM, E. M. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* Cry14 toxin against root knot nematode, *Meloidogyne javanica*. **Plant Protection Science**, v. 51, n. 1, p. 46-51, 2015. DOI: 10.17221/93/2013-PPS.

RODRÍGUEZ-KÁBANA, R. Organic and inorganic nitrogen amendments to soil as nematode suppressants. **Journal of Nematology**, v. 18, n. 2, p. 129-135, Apr. 1986.

RODRÍGUEZ-KÁBANA, R.; MORGAN-JONES, G.; GODROY, G.; GINTIS, B. O. Effectiveness of species of *Gliocladium*, *Paecilomyces* and *Verticillium* for control of *Meloidogyne arenaria* in field soil. **Nematropica**, v. 14, n. 2, p. 155-170, Dec. 1984.

SALEH, H.; SIKORA, R. A. Relationship between *Glomus fasciculatum* root colonization of cotton and its effect on *Meloidogyne incognita*. **Nematologica**, v. 30, n. 2, p. 230-237, 1984. DOI: 10.1163/187529284X00130.

SAYRE, R. M.; STARR, M. P. *Pasteuria penetrans* (ex Thorne, 1940) nom. rev., comb. n., sp. N., a mycelial and endospore-forming bacterium parasitic in plant-parasitic nematodes. **Proceedings of the Helminthological Society of Washington**, v. 52, n. 2, p. 149-165, 1985.

SAYRE, R. M.; STARR, M. P.; GOLDEN, A. M.; WERGIN, W. P.; ENDO, B. Y. Comparison of *Pasteuria penetrans* from *Meloidogyne incognita* with a related mycelial and endospore-forming bacterial parasite of *Pratylenchus brachyurus*. **Proceedings of the Helminthological Society of Washington**, v. 55, p. 28-49, 1988.

SAYRE, R. M.; WERGIN, W. P.; SCHMIDT, J. M.; STARR, M. P. *Pasteuria nishizawae* sp. nov., a mycelial and endospore-forming bacterium parasitic on cyst nematodes of genera *Heterodera* and *Globodera*. **Research in Microbiology**, v. 142, n. 5, p. 551-564, June 1991. DOI: 10.1016/0923-2508(91)90188-G.

SERRACIN, M.; SCHUERGER, A. C.; DICKSON, D. W.; WEINGARTNER, D. P. Temperature-dependent development of *Pasteuria penetrans* in *Meloidogyne arenaria*. **Journal of Nematology**, v. 29, n. 2, p. 228-238, June 1997.

SHARON, E.; BAR-EYAL, M.; CHET, I.; HERRERA-ESTRELLA, A.; KLEIFELD, O.; SPIEGEL, Y. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. **Phytopathology**, v. 91, n. 7, p. 687-693, July 2001. DOI: 10.1094/PHYTO.2001.91.7.687.

SHARON, E.; CHET, I.; SPIEGEL, Y. *Trichoderma* as a biological control agent. In: DAVIES, K.; SPIEGEL, Y. (Ed.). **Biological control of plant-parasitic nematodes**. New York: Springer, 2011. p. 183-201. DOI: 10.1007/s10658-007-9140-x.

SHARON, E.; CHET, I.; VITERBO, A.; BAR-EYAL, M.; NAGAN, H.; SAMUELS, G. J.; SPIEGEL, Y. Parasitism of *Trichoderma* on *Meloidogyne javanica* and role of the gelatinous matrix. **European Journal of Plant Pathology**, v. 118, n. 3, p. 247-258, July 2007. DOI: 10.1007/s10658-007-9140-x.

- SIDDIQUI, I. A.; HAAS, D.; HEEB, S. Extracellular protease of *Pseudomonas fluorescens* CHA0, a biocontrol factor with activity against the Root-Knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 9, p. 5646-5649, Sept. 2005. DOI: 10.1128/AEM.71.9.5646-5649.2005.
- SIDDIQUI, I. A.; SHAUKAT, S. S. Systemic resistance in tomato induced by biocontrol bacteria against the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* is independent of salicylic acid production. **Journal of Phytopathology**, v. 152, n. 1, p. 48-54, Jan. 2004. DOI: 10.1046/j.1439-0434.2003.00800.x.
- SIDDIQUI, I. A.; SHAUKAT, S. S.; SHEIKH, I. H.; KHAN, A. Role of cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* CHA0 in the suppression of root-knot nematode *Meloidogyne javanica* in tomato. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 22, n. 6, p. 641-650, June 2006. DOI: 10.1007/s11274-005-9084-2.
- SIDDIQUI, Z. A.; MAHMOOD, I. Biological control of plant parasitic nematodes by fungi: a review. **Bioresource Technology**, v. 58, n. 3, p. 229-239, Dec. 1996. DOI: 10.1016/S0960-8524(96)00122-8.
- SIKORA, R. A.; SCHÖNBECK, F. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizae (*Endogone mosseae*) on the population dynamics of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and *Meloidogyne hapla*. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PLANT PROTECTION, 8., 1975, Moscow. [Proceedings... S.l.: s.n.], 1975. p. 158-166.
- SON, S. H.; KHAN, Z.; KIM, S. G.; KIM, Y. H. Plant growth-promoting rhizobacteria *Paenibacillus polymyxa* and *Paenibacillus lentimorbus* suppress disease complex caused by root-knot nematode and fusarium wilt fungus. **Journal of Applied Microbiology**, v. 107, n. 2, p. 524-532, Aug. 2009. DOI:10.1111/j.1365-2672.2009.04238.x.
- SPEIJER, P. R. **Interrelationships between *Pratylenchus goodeyi* Sher & Allen and strains of non-pathogenic *Fusarium oxysporum* Schl. emd. Snyder & Hans. in roots of two banana cultivars.** 1993. 200 f. Thesis (Doctor) – University of Bonn, Bonn.
- SPIEGEL, Y.; CHET, I. Evaluation of *Trichoderma* spp. as a biocontrol agent against soilborne fungi and plant-parasitic nematodes in Israel. **Integrated Pest Management Reviews**, v. 3, n. 3, p. 169-175, Sept. 1998. DOI: 10.1023/A:1009625831128.
- SPIEGEL, Y.; MOR, M.; SHARON, E. Attachment of *Pasteuria penetrans* endospores to the surface of *Meloidogyne javanica* second-stage juveniles. **Journal of Nematology**, v. 28, n. 3, p. 328-334, Sept. 1996.
- STIRLING, G. R. Biological control of *Meloidogyne javanica* with *Bacillus penetrans*. **Phytopathology**, v. 74, p. 55-60, 1984. DOI: 10.1094/Phyto-74-55.
- STIRLING, G. R. **Biological control of plant-parasitic nematodes: progress, problems and prospects.** Wallingford: CAB International, 1991. 282 p.
- STIRLING, G. R. Biological control of plant-parasitic nematodes: an ecological perspective, a review of progress and opportunities for further research. In: DAVIES, K.; SPIEGEL, Y. (Ed.). **Biological control of plant-parasitic nematodes.** New York: Springer, 2011. p. 1-38. (Progress in biological control, v. 11). DOI: 10.1007/978-1-4020-9648-8_1.
- STIRLING, G. R. Biological products for nematode management. In: STIRLING, G. R. (Ed.). **Biological control of plant-parasitic nematodes.** Wallingford: CABI, 2014. v. 2, p. 342-391.
- STIRLING, G. R. Effect of temperature on infection of *Meloidogyne javanica* by *Bacillus penetrans*. **Nematologica**, v. 27, n. 4, p. 458-462, 1981. DOI: 10.1163/187529281X00458.
- STIRLING, G. R. Host specificity of *Pasteuria penetrans* within the genus *Meloidogyne*. **Nematologica**, v. 31, n. 2, p. 203-209, 1985. DOI: 10.1163/187529285X00265.

- STIRLING, G. R.; SHARMA, R. D.; PERRY, J. Attachment of *Pasteuria penetrans* spores to the root knot nematode *Meloidogyne javanica* in soil and its effects on infectivity. **Nematologica**, v. 36, n. 1-4, p. 246-252, 1990. DOI: 10.1163/002925990X00211.
- STIRLING, G. R.; WACHTEL, M. F. Mass production of *Bacillus penetrans* for the biological control of root-knot nematodes. **Nematologica**, v. 26, n. 3, p. 308-312, 1980. DOI: 10.1079/9781780644158.0342.
- STIRLING, G. R.; WEST, L. M. Fungal parasites of root-knot nematode eggs from tropical and subtropical regions of Australia. **Australasian Plant Pathology**, v. 20, n. 4, p. 149-154, Dec. 1991. DOI: 10.1071/APP9910149.
- STRAJNAR, P.; ŠIRCA, S.; KNAPIČ, M.; UREK, G. Effect of Slovenian climatic conditions on the development and survival of the root-knot nematode *Meloidogyne ethiopica*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 129, n. 1, p. 81-88, Jan. 2011. DOI: 10.1007/s10658-010-9694-x.
- STURHAN, D. Untersuchungen über Verbreitung und Wirte des Nematoden-parasiten *Bacillus penetrans*. **Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft**, v. 226, p. 75-93, 1985.
- SUNDARARAJU, P.; THANGAVELU, R.; CANNAYANE, I. Management of *Pratylenchus coffeae* and *Meloidogyne incognita* on banana by using endophytic fungi. **Current Nematology**, v. 13, n. 1/2, p. 77-81, 2002.
- TAYLOR, D. P.; SASSER, J. N. **Biología, identificación y control de los nematodos de nódulo de la raíz (*Meloidogyne* species)**. Raleigh: Universidad del Estado de Carolina del Norte, 1983. 111 p.
- TEDFORD, E. C.; JAFFEE, B. A.; MULDOON, A. E.; ANDERSON, C. E.; WESTERDAHL, B. B. Parasitism of *Heterodera schachtii* and *Meloidogyne javanica* by *Hirsutella rhossiliensis* in microplots over two growing seasons. **Journal of Nematology**, v. 25, n. 3, p. 427-433, Sept. 1993.
- TIKHONOV, V. E.; LOPEZ-LLORCA, L. V.; SALINAS, J.; JANSSON, H.-B. Purification and characterization of chitinases from the nematophagous fungi *Verticillium chlamydosporium* and *V. suchlasporium*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 35, n. 1, p. 67-78, Feb. 2002. DOI: 10.1006/fgbi.2001.1312.
- TIMM, L.; PEARSON, D.; JAFFEE, B. Nematode-trapping fungi in conventionally and organically managed corn-tomato rotations. **Mycologia**, v. 93, n. 1, p. 25-29, 2001. DOI: 10.1080/00275514.2001.12061276.
- TODOKORO, D.; YAMADA, N.; FUKUCHI, M.; KISHI, S. Topical voriconazole therapy of *Purpureocillium lilacinum* keratitis that occurred in disposable soft contact lens wearers. **International Ophthalmology**, v. 34, n. 1, p. 1159-1163, Oct. 2014. DOI: 10.1007/s10792-014-9965-1.
- TRINH, S. A.; ANGARONE, M. P. *Purpureocillium lilacinum* tattoo-related skin infection in a kidney transplant recipient. **Transplant Infectious Disease**, v. 19, n. 3, e12689, June 2017. DOI: 10.1111/tid.12689.
- TRUDGILL, D. L.; BALA, G.; BLOK, V. C.; DAUDI, A.; DAVIES, K. G.; FARGETTE, M.; GOWEN, S. R.; MADULU, J. D.; MATEILLE, T.; MWAGENI, W.; NETSCHER, C.; PHILLIPS, M. S.; SAWADOGO, A.; TRIVINO, G. C.; VOYOULALLOU, E. The importance of tropical root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) and factors affecting the utility of *Pasteuria penetrans* as a biocontrol agent. **Nematology**, v. 2, n. 8, p. 823-845, Jan. 2000. DOI: 10.1163/156854100750112789.
- WANG, G.; CHEN, X.; DENG, Y.; LI, Z.; XU, X. Synthesis and nematicidal activities of 1, 2, 3-benzotriazin-4-one derivatives against *Meloidogyne incognita*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 31, p. 6883-6889, 2015. DOI: 10.1021/acs.jafc.5b01762.
- WEIBELZAHN-FULTON, E.; DICKSON, D. W.; WHITTY, E. B. Suppression of *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* by *Pasteuria penetrans* in field soil. **Journal of Nematology**, v. 28, n. 1, p. 43-49, Mar. 1996.

WILLCOX, J.; TRIBE, H. T. Fungal parasitism in cysts of *Heterodera*: I. Preliminary investigations. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 62, n. 3, p. 585-594, June 1974. DOI: 10.1016/S0007-1536(74)80069-0.

WILLIAMS, A. B.; STIRLING, G. R.; HAYWARD, A. C.; PERRY, J. Properties and attempted culture of *Pasteuria penetrans* a bacterial parasite of root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*). **Journal of Applied Bacteriology**, v. 67, n. 2, p. 145-156, Aug. 1989. DOI: 10.1111/j.1365-2672.1989.tb03389.x.

XIA, Y.; XIE, S.; MA, X.; WU, H.; WANG, X.; GAO, X. The *purL* gene of *Bacillus subtilis* is associated with nematicidal activity. **FEMS Microbiology Letters**, v. 322, n. 2, p. 99-107, Sept. 2011. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2011.02336.x.

XIANG, N.; LAWRENCE, K. S.; KLOEPPER, J. W.; DONALD, P. A.; MCINROY, J. A.; LAURENCE, G. W. Biological control of *Meloidogyne incognita* by spore-forming plant growth-promoting rhizobacteria on cotton. **Plant Disease**, v. 101, n. 5, p. 774-784, May 2017. DOI: 10.1094/PDIS-09-16-1369-RE.

XU, L. L.; LAI, Y. L.; WANG, L.; LIU, X. Z. Effects of abscisic acid and nitric oxide on trap formation and trapping of nematodes by the fungus *Drechslerella stenobrocha* AS6.1. **Fungal Biology**, v. 115, n. 2, p. 97-101, Feb. 2011. DOI: 10.1016/j.funbio.2010.10.006.

ZHANG, F.; PENG, D.; YE, X.; YU, Z.; HU, Z.; RUAN, L.; SUN, M. *In vitro* uptake of 140kDa *Bacillus thuringiensis* nematicidal crystal proteins by the second stage juvenile of *Meloidogyne hapla*. **PlosOne**, v. 7, n. 6, e38534, 2012. DOI: 10.1371/journal.pone.0038534.

ZUCKERMAN, B. M.; DICKLOW, M. B.; ACOSTA, N. A strain of *Bacillus thuringiensis* for the control of plant-parasitic nematodes. **Biocontrol Science and Technology**, v. 3, n. 1, p. 41-46, 1993. DOI: 10.1080/09583159309355257.

PARTE 4

CONTROLE DE PRAGAS COM USO DE SEMIOQUÍMICOS

CAPÍTULO 13

Semioquímicos no controle de pragas

Diego Martins Magalhães

Mirian Fernandes Furtado Michereff

Marla Juliane Hassemer

Maria Carolina Blassioli-Moraes

Miguel Borges

Os seres vivos, desde fungos e bactérias, a plantas e animais, interagem entre si e são capazes de se comunicar. Essa comunicação é estabelecida quando um organismo (emissor) emite um sinal que é percebido por outro organismo (receptor) de modo a alterar o seu padrão de comportamento ou fisiologia. Esses sinais nada mais são do que modificações do ambiente, físico ou químico, produzidas pelo emissor, as quais são utilizadas pelo receptor como meio de adquirir informações acerca desse organismo. No entanto, receptores não alvo podem utilizar pistas (sinais não intencionais) oriundas dos emissores como fonte de informação. Essa abordagem é conhecida como espionagem química. Diferentemente dos sinais, as pistas não foram moldadas pela seleção natural com o propósito específico de transmitir uma informação, contudo elas podem influenciar o comportamento de outros organismos. Desse modo, existem sinais que atuam como pistas incidentais em determinadas interações com receptores não alvo, nas quais sua função atribuída não seria a finalidade primária (Figura 1).

A comunicação química é uma das mais amplamente distribuídas formas de comunicação entre os seres vivos. Os semioquímicos (gr. *semíon*: sinais) são as substâncias utilizadas como mediadoras nas interações que ocorrem nessa modalidade de comunicação. Essas substâncias podem atuar tanto nas interações intraespecíficas quanto nas interespecíficas. Quando utilizados nas intraespecíficas, são classificados como feromônios (gr. *pherein*: carregar e *horman*: estimular). Já nas interespecíficas, são denominados aleloquímicos (gr. *allel*: outro) (Figura 2).

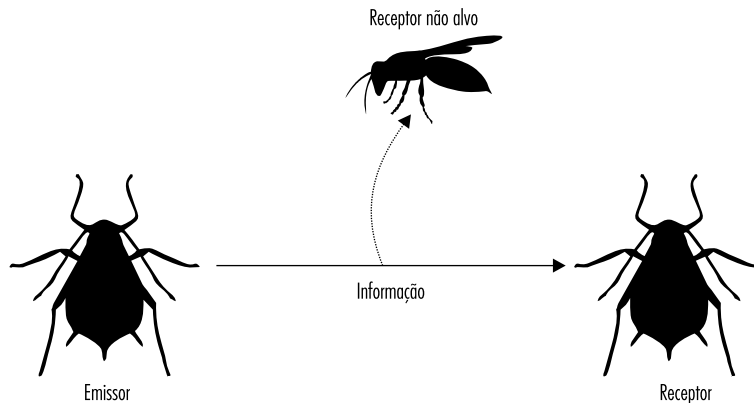


Figura 1. Modelo esquemático dos elementos envolvidos na comunicação química entre organismos. Os elementos básicos para o estabelecimento da comunicação, no entanto, são o emissor e o receptor.

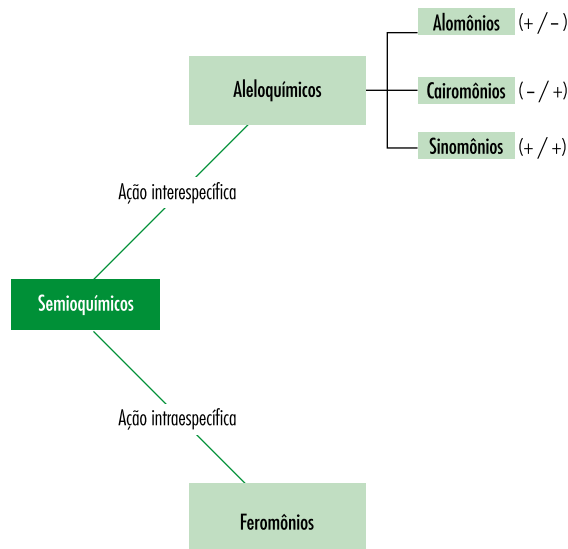


Figura 2. Estrutura da terminologia de semioquímicos baseada no critério de custo-benefício dos organismos, em que a ordem dos sinais (“+” indica benefício e “-” custo) dentro dos parênteses corresponde ao emissor e ao receptor, respectivamente.

Fonte: Adaptado de Dicke e Sabelis (1988).

Os feromônios são semioquímicos que medeiam as interações entre organismos da mesma espécie. Essa classe de semioquímicos já foi descrita para diferentes grupos de organismos, como fungos, bactérias e animais (vertebrados e invertebrados). Existem vários tipos de feromônios com diferentes funções, no entanto os mais estudados são o sexual e o de agregação. Ao contrário dos feromônios, os aleloquímicos estão envolvidos nas interações entre organismos de espécies diferentes, sendo subdivididos de acordo com o organismo beneficiado na interação: o emissor (alomônio), o receptor (cairomônio) e ambos (sinomônio). Assim, os alomônios

(gr. *allos*: outro e *horman*: estimular), geralmente, são substâncias de defesa dos seres vivos, como os metabólitos secundários de plantas (exemplos: terpenos, compostos fenólicos e alcaloides) ou as substâncias repelentes produzidas pelos demais organismos (exemplos: quinonas de cupins (Termitidae); naftalenos de fungos). Já os cairomônios (gr. *kairós*: oportunidade, vantagem; e *horman*: estimular) são comumente utilizados nas relações entre presa-predador ou parasitoide-hospedeiro, com alto potencial de uso no manejo de pragas. Os sinomônios (gr. *syn*: junto e *horman*: estimular) incluem os voláteis florais e os nectários extraflorais, que atraem os polinizadores, ou os voláteis de fungos, que atraem insetos dispersores de esporos. Exemplos de aleloquímicos e feromônios serão apresentados a seguir.

É importante salientar que as classificações supracitadas estão relacionadas à função ou ao efeito de cada substância em cada interação específica. De modo que uma substância química pode receber uma classificação diferente de acordo com cada situação. Por exemplo, um semioquímico emitido por um percevejo macho pode ter função de feromônio para um percevejo fêmea, mas pode atuar como cairomônio para o seu inimigo natural.

CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS E INTERAÇÕES ECOLÓGICAS

Os seres vivos produzem semioquímicos que são utilizados nas interações com outros indivíduos da mesma e também de espécies diferentes, as quais podem ou não pertencer ao mesmo reino. A seguir será abordada a ação desses compostos químicos em bactérias, fungos, nematódeos, insetos e plantas.

Semioquímicos de bactérias

A comunicação química entre as bactérias se dá através da transmissão de sinais, célula a célula. O adensamento de células bacterianas forma verdadeiros microrganismos coloniais, os quais utilizam esses sinais para a percepção das condições ambientais. Muitos semioquímicos de bactérias já foram identificados e os feromônios, especificamente, agem por meio do sistema de percepção quórum (do inglês, *quorum sensing*). Nesse mecanismo de comunicação, substâncias de baixo peso molecular são secretadas no ambiente extracelular, cuja concentração está relacionada à densidade populacional dos indivíduos emissores. Assim, esses organismos detectam a presença de outros da mesma espécie através de receptores específicos presentes na membrana celular, permitindo-lhes avaliar o tamanho da população

através da concentração do feromônio emitido. Quando a concentração feromonal atinge o nível crítico (correspondente a uma densidade celular específica), as células bacterianas adensadas passam a responder por meio de uma ação coordenada com respostas unificadas, as quais favorecem a sobrevivência da população.

Dentre as bactérias Gram-positivas, os feromônios identificados são, principalmente, aminoácidos e pequenos peptídeos; já para as gram-negativas, derivados de ácidos graxos. Compostos como aspartato, butirolactona, acil-homosserina lactona, ácidos graxos de cadeias ramificadas e pequenos peptídeos já foram descritos na literatura como feromônios. Os feromônios regulam e induzem importantes funções na fisiologia bacteriana, tais como a bioluminescência, a produção de fatores de virulência, a formação de corpos de frutificação e a agregação de células. A produção de bioluminescência em *Vibrio fischeri*, por exemplo, ocorre através da ação da enzima luciferase, que tem sua síntese e atividade ativadas pela emissão do feromônio *N*-(3-oxo-hexanoil)-homosserina lactona (Eberhard et al., 1981). Essa molécula se difunde no meio extracelular, ligando-se a proteínas de membrana de outros indivíduos. Quando a população de *V. fischeri* cresce, há um aumento na secreção do feromônio, o que leva à ativação da expressão de genes ligados à bioluminescência. Já em *Enterococcus faecalis*, o peptídeo cCF10 atua como feromônio de agregação e sexual (Dunny et al., 1978). Esse feromônio é emitido por células receptoras e detectado por células doadoras (as quais contêm o plasmídeo), induzindo-as a permanecerem mais agregadas, aumentando, assim, a frequência de transferência de plasmídeo entre as células (função sexual).

Além dos semioquímicos de ação intraespecífica, as bactérias produzem ainda aleloquímicos que influenciam as interações com os insetos e as plantas. As bactérias das famílias Enterobacteriaceae, Pseudomonaceae e Bacillaceae desempenham papel importante na produção de compostos voláteis que afetam o comportamento de muitas espécies de insetos, especialmente das ordens Diptera, Hymenoptera, Coleoptera e Orthoptera, influenciando na escolha de sítios de alimentação, na orientação e na seleção de substratos para a oviposição (indução/inibição), na localização de hospedeiros e de presas e na agregação de indivíduos. *Staphylococcus sciuri* é uma bactéria encontrada na microbiota intestinal e no *honeydew* secretado pelo pulgão *Acyrtosiphon pisum*. Os voláteis emitidos por *S. sciuri* são altamente atrativos para a mosca predadora *Episyrphus balteatus*, inimiga natural de *A. pisum*. Dentre os compostos emitidos por *S. sciuri*, o 3-metil-2-butenal e os ácidos 3-metilbutanoico e 2-metilbutanoico atraem *E. balteatus*, funcionando como um cariomônio para esse predador (Leroy et al., 2011). Em plantas, as bactérias podem modular os metabolismos primário e secundário, agindo de maneira benéfica (rizobactérias e fixadoras de nitrogênio). Um exemplo desses benefícios pode ser encontrado na interação de *Arabidopsis thaliana* com o fungo *Bacillus subtilis*. A exposição de *A. thaliana* aos

voláteis emitidos por *B. subtilis* promove o seu crescimento, aumenta a sua capacidade fotossintética e a sua tolerância à salinidade (Xie et al., 2009) e induz resistência sistêmica à infecção do fungo necrotrófico *Botrytis cinerea* (Sharifi; Ryu, 2016).

Semioquímicos de fungos

Nesses organismos, os feromônios estão envolvidos em sinalizações que regulam o cruzamento tanto de indivíduos unicelulares como multicelulares. Em fungos heterotálicos, aqueles que precisam de um parceiro sexual para o cruzamento, a reprodução ocorre entre dois tipos celulares distintos denominados *mating-type* (MAT): *A* e *a* ou α e α ou + e -, que correspondem aos parceiros sexuais. Assim, antes da plasmogamia, os feromônios são liberados no ambiente, permitindo a atração desses tipos celulares. Nos ascomicetos, a interação sexual ocorre entre as células *a* e α , nas quais os genes responsáveis pela produção dos feromônios estão presentes. Duas classes de feromônio são produzidas por essas células: as células *a* produzem o chamado fator *a*, que é um lipopeptídeo de 12 aminoácidos e as células α , o fator α , que corresponde a um peptídeo de 13 aminoácidos. Essas células possuem ainda, na superfície de suas membranas, receptores acoplados à proteína G (GPCRs), que agem no reconhecimento e na percepção dos feromônios. Assim, em *Saccharomyces cerevisiae*, por exemplo, os loci *MATa* e *MAT α* secretam os feromônios fator *a* e fator α , respectivamente. O locus *MATa* possui receptores GPCRs para o feromônio fator α e o locus *MAT α* receptores para o feromônio fator *a* (Michaelis; Powers, 1988). Feromônios sexuais já foram descritos para vários ascomicetos, tais como: *S. cerevisiae* (Zhang et al., 1998), *Candida albicans* (Bennett et al., 2003), *Schizosaccharomyces pombe* (Davey, 1992), *Podospora anserina* (Coppin et al., 2005), *Magnaporthe grisea* (Shen et al., 1999) e *Aspergillus nidulans* (Paoletti et al., 2007). Os basidiomicetos, por sua vez, possuem múltiplas células de cruzamentos, com dois ou mais alelos, e produzem apenas uma única classe de feromônio, que são lipopeptídeos. Em *Ustilago maydis*, por exemplo, o locus *a* tem dois alelos e o locus *b* tem múltiplos alelos; cada alelo do locus *a* produz um feromônio sexual e seu receptor específico (Vaillancourt et al., 1997; O'Shea et al., 1998). Como exemplos de feromônios já identificados, têm-se os de *Schizophyllum commune* (Vaillancourt et al., 1997), *Coprinus cinereus* (O'Shea et al., 1998), *Ustilago hordei* e *U. maydis* (Raudaskoki; Kothe, 2010).

Além dos feromônios, os fungos produzem uma série de aleloquímicos provenientes de seu metabolismo secundário, os quais desempenham importante papel na defesa, na comunicação e nas relações simbióticas desses organismos. Muitos desses aleloquímicos são substâncias voláteis, como o composto (3*R*)-octen-3-ol que atua em: atividades fungicidas e fungistáticas, atração de insetos dispersores de esporos,

indução de conidiação em *Trichoderma* e em respostas induzidas à injúria e à indução de defesa em plantas, por exemplo (Spiteller, 2015). Muitas espécies de fungos dependem de insetos para a dispersão de esporos, de maneira análoga à polinização em plantas. É o caso do gênero *Epichloë*, o qual compreende fungos endofíticos de várias espécies de gramíneas. Eles produzem uma estrutura externa de frutificação chamada estroma que é usada para a reprodução sexuada. Esses fungos são incapazes de realizar autofecundação, necessitando de um agente para que a fecundação cruzada aconteça. Dessa forma, a emissão do sesquiterpeno chokol K tem um papel importante na atração de fêmeas de moscas do gênero *Botanophila*, as quais realizam a fecundação cruzada entre os diferentes MAT de *Epichloë* spp. (Schiestl et al., 2006). Esse sesquiterpeno funciona como sinomônio na interação fungo-inseto, uma vez que o fungo se beneficia com a reprodução e a mosca encontra um sítio de oviposição e alimentação para as suas larvas. As larvas de *Botanophila* dependem do estroma fertilizado como fonte de alimentação. O que sobra do fungo é suficiente para que a reprodução aconteça.

Semioquímicos de nematódeos

A comunicação química também desempenha um papel importante no comportamento e na biologia dos nematódeos. Acredita-se que a percepção dos odores provenientes do ambiente, tanto de coespecíficos quanto de hospedeiros, ocorra através de neurônios receptores presentes no par de poros anfídeos localizados na cabeça desses organismos. Esses neurônios respondem a uma grande diversidade de odores solúveis e voláteis.

No que concerne aos semioquímicos de ação intraespecífica, uma família de glicolipídeos de baixo peso molecular denominada ascaroside modula muitos aspectos do comportamento dos nematódeos. Essas moléculas compõem a mistura feromonal de diferentes espécies, desde as parasitárias (de animais e plantas) às de vida livre. Os ascarosides apresentam grande versatilidade estrutural e funcional, de modo que a mesma molécula pode desencadear diferentes respostas comportamentais. Como é o caso do ascaroside-1 (ascr #1) que, em *Panagrellus redivivus*, age como feromônio sexual atraindo os machos e como repelente para as fêmeas (Choe et al., 2012); e do ascr #3 que, em *Caenorhabditis elegans*, é produzido por hermafroditas para a atração de machos e para a repelência de outros hermafroditas (Srinivasan et al., 2008, 2012). Sabe-se ainda que as misturas feromonais contendo os ascarosides influenciam diretamente na atração sexual, na agregação e na repulsão de indivíduos, na plasticidade olfativa e no desenvolvimento dos nematódeos (inclusive na indução de larvas *dauer* – estágio do desenvolvimento do nematoide em que consegue sobreviver a condições desfavoráveis).

Além do papel como feromônio, os ascarosídeos também exercem ação interespecífica, atuando como aleloquímicos. Os nematódeos parasitas de plantas *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica*, *Meloidogyne hapla*, *Heterodera glycines* e *Pratylenchus brachyurus* produzem o ascarosídeo-18 (ascr #18), um composto com uma cadeia lateral de 11 carbonos, que ativa o sistema de defesa das plantas. Em batata (*Solanum tuberosum*), tomate (*Solanum lycopersicum*), cevada (*Hordeum vulgare*) e *Arabidopsis*, observou-se que a exposição ao ascr #18 induz a expressão de genes relacionados aos principais fito-hormônios mediadores de imunidade, o ácido salicílico e o ácido jasmônico, aumentando a resistência das plantas a patógenos, como fungos, vírus, bactérias e nematódeos (Manosalva et al., 2015). O ascr #18, nos exemplos citados, funciona como caimônio para as plantas, uma vez que as favorece ativando seus mecanismos de defesa.

Semioquímicos de insetos

Os insetos correspondem ao grupo mais amplamente estudado quanto à produção, emissão e utilização de semioquímicos. Inúmeros compostos já foram identificados com ação intra e interespecífica para várias espécies. No tocante aos semioquímicos de ação intraespecífica, os feromônios são divididos em duas categorias: preparadores e desencadeadores. Os preparadores promovem eventos fisiológicos importantes que afetam o desenvolvimento e/ou a reprodução dos insetos, principalmente, para os insetos sociais na manutenção da organização da colônia. Em abelhas, por exemplo, a rainha produz uma substância nas glândulas mandibulares (sendo o principal composto o ácido 9-oxo-*trans*-2-decenoico), a qual é passada para as operárias pelo comportamento de lambadura, que inibe o desenvolvimento ovariano. Quando esse estímulo é retirado da colônia ou tem sua produção diminuída, as operárias modificam a alimentação das larvas jovens, que se encontram nas realeiras (células diferenciadas), podendo ou não levar ao surgimento de uma nova rainha. Já os desencadeadores são compostos que estimulam a modificação imediata do comportamento do indivíduo que recebe o estímulo e podem ser divididos em: sexual, agregação, trilha, alarme/defesa, marcação e oviposição.

Feromônios

O feromônio sexual é definido como o odor produzido pelo macho ou pela fêmea, que estimula a mudança no comportamento do sexo oposto, levando à atração e à aproximação de ambos para o acasalamento. É um dos mais estudados e é formado, na maioria das vezes, pela mistura de alguns compostos químicos com 10 a 25 carbonos,

podendo ser acíclicos ou cíclicos, hidrocarbonetos sem ou com 2 a 4 insaturações, e muitas vezes contendo grupos funcionais como aldeído, álcool e acetato. As variações na estrutura ou na composição das misturas feromonais são geralmente responsáveis pela especiação dos insetos, uma vez que esta é específica para cada espécie. A especificidade evita o acasalamento entre espécies diferentes, contribuindo, desse modo, para o isolamento reprodutivo. Vários parâmetros fisiológicos e ambientais influenciam na produção e na liberação dos feromônios, bem como na sua percepção, destacando-se a idade, o ritmo circadiano, o histórico de acasalamento, a intensidade luminosa, a temperatura e umidade, a velocidade do ar e a presença e a natureza da vegetação circundante. Na maioria das espécies dentro das ordens Lepidoptera, Hymenoptera e Blattaria, por exemplo, é a fêmea que produz o feromônio para a atração do macho coespecífico. Em algumas espécies de Lepidoptera, os machos possuem tufo de pelos no final do abdome, os quais produzem um feromônio durante o comportamento de corte, chamado feromônio afrodisíaco, que permite o reconhecimento por parte da fêmea e o posterior aceite para a cópula. Alguns machos também podem produzir um feromônio que é transmitido para a fêmea durante a cópula com a função de interromper a produção do feromônio sexual, chamado feromônio antiafrodisíaco. A ação desse feromônio tem sido discutida na literatura como uma estratégia do macho para impedir que a fêmea tenha novos acasalamentos, impossibilitando que ela receba espermatozoides de outros machos, garantindo, assim, o sucesso reprodutivo do indivíduo que possui esse tipo de feromônio. Existem também exemplos em que a produção do feromônio é feita pelo macho, sendo as fêmeas atraídas, como observado em Hemiptera, Mecoptera e algumas espécies de Lepidoptera. A produção do feromônio sexual pode ocorrer na glândula metatorácica, abdominal ou em células dimórficas como em Hemiptera; na superfície da cutícula, na glândula mandibular, pigidial e de Dufour da rainha em Hymenoptera; em células associadas na região das pernas e do abdome em Diptera. Já em lepidópteros, no geral, as fêmeas produzem o feromônio em uma glândula especializada localizada entre o 8º e 9º segmentos abdominais, mas há exemplos de machos que também emitem feromônio sexual.

O feromônio de agregação é liberado por um dos sexos e atrai a ambos, podendo ter como função principal tanto o acasalamento, quanto o adensamento de indivíduos. Como exemplo da função sexual do feromônio de agregação, pode-se citar o caso do bicudo-do-algodoeiro (*Anthonomus grandis* Boheman), em que os machos emitem o feromônio que, apesar de também atrair outros machos, atrai as fêmeas, possibilitando a cópula. Além dessa função, o feromônio de agregação, como o nome sugere, promove o comportamento de agregação de coespecíficos de ambos os sexos e, em muitos casos, de estágios imaturos, com função principalmente relacionada à proteção, alimentação ou outra que não a de acasalamento. Dessa

forma, esse tipo de feromônio pode ser emitido pelo macho ou pela fêmea. Como para os demais feromônios, há especificidade na mistura do feromônio de agregação, e a produção e a percepção são controladas por fatores internos (idade, maturidade sexual, *status* reprodutivo e condição nutricional) e externos (temperatura, umidade, comprimento do dia, densidade de coespecíficos na região, etc.).

O feromônio de agregação já foi descrito nas ordens Hemiptera, Orthoptera, Blattaria, Odonata, Diptera e principalmente Coleoptera. Em algumas espécies de Diptera, o feromônio é liberado pela fêmea, mas é produzido pelo macho e transferido para ela durante o acasalamento. Em Coleoptera, normalmente, a produção e a liberação são feitas pelos machos, mas fêmeas também podem produzir e liberar o feromônio, como no exemplo do besouro da família Scolytidae, *Dendroctonus brevicomis* Le Conte, que ataca os pinheiros (*Pinus* spp.) (Seybold; Tittiger, 2003). No barbeiro [*Triatoma mazzottii* (Usinger)], o feromônio de agregação pode ser encontrado nas fezes do macho, atuando na atração de machos ou nas fezes de ninfas e fêmeas, com efeito atrativo para ninfas não alimentadas e outras fêmeas (Cruz-López et al., 2001). O comportamento gregário pode ainda auxiliar na proteção contra os inimigos naturais e proteger das condições adversas do meio em que se encontram. Porém, pode haver também um custo nesse comportamento, uma vez que pode ocorrer: competição por alimento, espaço e acasalamento; maior probabilidade de transmissão de doenças e parasitas; e ainda aumentar a chance de parasitismo ou predação, já que o feromônio pode servir de pista para os inimigos naturais. No entanto, alguns autores relatam que pode haver uma redução da produção do feromônio de agregação quando a densidade populacional atinge determinado nível; um efeito repelente quando a concentração do feromônio está elevada e até mesmo a produção de compostos antiagregação (chamado de feromônio antiagregação ou epideítico). Provavelmente essas são estratégias desenvolvidas pelas espécies para garantir seu sucesso reprodutivo na natureza.

O feromônio de trilha é utilizado pelos insetos sociais para sinalizar a direção a ser seguida durante o forrageamento em busca de alimento e abrigo; bem como para indicar o tamanho de um túnel a ser escavado e ainda recrutar operários para desempenhar esse trabalho. A mistura feromonal é formada por compostos nitrogenados, oxigenados e alguns terpenos. Não são necessariamente específicos da espécie, uma vez que várias espécies compartilham alguns compostos em comum. A produção ocorre em locais diversos: em formigas (Formicidae), o feromônio geralmente é um resíduo metabólico excretado pela glândula de veneno, mas pode ser produzido também nas glândulas de Dufour, de Pava e pigidial e pelo trato digestório; nas abelhas-sem-ferrão (Hymenoptera: Meliponini), os compostos são encontrados nas glândulas mandibulares; e nos cupins (Isoptera: Termitidae), a produção ocorre na

glândula esternal. A ação do feromônio de trilha na natureza é de fácil visualização, quando observamos, por exemplo, o comportamento das formigas até a fonte de alimento. O feromônio de trilha pode ser associado a outras pistas, como a memória da localização de recursos durante o forrageamento, quando os insetos estão em busca de alimento ou até mesmo de um novo local para o ninho.

O feromônio de alarme, como o nome indica, tem como principal função alertar os demais indivíduos da presença de um predador ou de uma ameaça, podendo ocorrer dois comportamentos distintos: o recrutamento de mais indivíduos para o local da perturbação e subsequente ataque ao agente agressor, como observado em abelhas, formigas e cupins; ou a fuga através da rápida dispersão dos insetos, como ocorre nos pulgões quando se soltam da planta hospedeira. Em algumas formigas, a produção pode ocorrer nas glândulas mandibular e anal; em abelhas, é produzido nas glândulas mandibulares e na glândula associada ao ferrão; nos cupins, nas glândulas frontais; e, em percevejos da família Pentatomidae, nas glândulas metatorácicas nos adultos, enquanto, nas ninfas, a produção se dá nas glândulas abdominais dorsais. Quando o percevejo se sente ameaçado, ele libera os compostos, que são voláteis, na tentativa de afastar o agressor, e esses compostos têm um cheiro desagradável característico do grupo. Em alguns casos, como nos insetos sociais e também em percevejos, o feromônio de alarme é produzido nas mesmas glândulas em que ocorre a produção de substâncias químicas de defesa, muitas vezes utilizados como alomônios contra predadores, sugerindo que eles podem ter sido derivados de compostos de defesa.

O feromônio de marcação é encontrado entre formigas e abelhas e é utilizado para marcar o território onde o ninho está localizado, indicar a sua entrada e diferenciar os ninhos de colônias diferentes. Análises químicas dos rastros deixados por formigas de algumas espécies revelaram que a mistura do feromônio é formada por hidrocarbonetos saturados e insaturados, aldeídos, acetatos e ésteres. Algumas espécies de moscas-das-frutas dos gêneros *Ceratitis* e *Anastrepha*, após a oviposição, utilizam esse feromônio para marcar a região dos frutos em que seus ovos foram colocados, impedindo, desse modo, que novas fêmeas ovipositem no mesmo local, o que diminui a chance de haver competição por recurso e garante a melhor sobrevivência da prole. O comportamento de marcação com o feromônio também é observado em algumas espécies de vespas parasitoides da ordem Hymenoptera, onde as fêmeas das vespas marcam seus hospedeiros (ovos ou lagartas) para indicar que o local já está sendo colonizado. Para algumas espécies de mamangava do gênero *Bombus*, os machos produzem uma substância composta por grupos de álcoois mono-, sesqui- e diterpênicos, aldeídos ou acetatos na glândula labial, que é utilizada para marcar folhas ao redor do ninho e serve também como atrativo para

rainhas virgens. Os machos ficam esperando no local marcado e, quando as fêmeas passam, ocorre o acasalamento.

O feromônio de oviposição tem sido observado em mosquitos hematófagos com a função de atrair fêmeas grávidas para a oviposição em um ambiente já selecionado por indivíduos da mesma espécie. A inclusão de novas larvas em um grupo pode ser um comportamento vantajoso para a espécie, em razão da maior habilidade de manter a água livre de espuma, uma vez que esta reduz a disponibilidade de oxigênio, e ainda possibilita a redução do risco de predação através da diluição das larvas na água. Em algumas espécies de mosquitos do gênero *Culex*, as fêmeas são atraídas pelo feromônio presente nos ovos coespecíficos; enquanto, no gênero *Aedes*, algumas espécies são repelidas pela presença dos ovos, sendo atraídas pelo feromônio liberado pelas larvas da mesma espécie. Para *Culex quinquefasciatus* Say, foram encontradas gotículas de feromônio na região apical dos ovos, porém não se sabe ainda onde ocorre a produção do feromônio nas larvas (Laurence; Pickett, 1985). O feromônio de oviposição do mosquito-palha [*Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva)] é produzido pelas glândulas acessórias e é secretado na superfície do ovo após a oviposição (Elnaiem; Ward, 1991). O feromônio também foi encontrado nos exsudados anais de pré-pupas da mosca-tsé-tsé (*Glossina morsitans* Westwood) (Leonard; Saini, 1993).

Aleloquímicos

Além dos feromônios, os insetos ainda produzem uma série de aleloquímicos que atuam nas mais diversas interações com outros insetos e demais organismos. Como alomônio, os cupins, por exemplo, secretam alguns compostos (monoterpenos, cetonas ou quinonas) nas glândulas frontais e na saliva para se defenderem das formigas que tentam atacá-los. A abelha *Lestrimellita limao* produz uma secreção terpênica na mandíbula, a qual tem efeito repelente, que é utilizada durante o comportamento de saque aos ninhos de abelhas do gênero *Trigona* (Blum, 1966). A borboleta monarca sequestra uma série de cardenolídeos das plantas do gênero *Asclepias*, tornando-se impalatáveis aos predadores. E ainda, pode-se citar o exemplo de inquilinismo, onde o parasitoide *Lysiphlebus cardui* (Marshall) adquire os hidrocarbonetos cuticulares do seu hospedeiro, o pulgão *Aphis fabae* Scopoli, e, com esse mimetismo químico, consegue caminhar livremente nas colônias do hospedeiro, sem ser atacado pelas formigas predadoras *Lasinus niger* (Linnaeus), que protegem os pulgões (Liepert; Dettner, 1996).

No caso dos cairomônios, o parasitoide de ovos *Telenomus podisi* Ashmead, durante o forrageamento em busca dos ovos do seu hospedeiro preferencial,

o percevejo *Euschistus heros* (Fabricius), segue pistas como: o composto (*E*)-2-hexenal (Borges et al., 1993; Vieira et al., 2014), um dos componentes do feromônio de alarme de *E. heros*; hidrocarbonetos deixados nos rastros de fêmeas de *E. heros* (Borges et al., 2003) e substâncias presentes nos ovos do percevejo (Michereff et al., 2016; Tognon et al., 2016). Todos esses compostos desempenham certo papel para o percevejo, mas são utilizados também pelo parasitoide, que adquiriu vantagem na busca pelo hospedeiro, a partir do momento que começou a seguir essas pistas químicas. Além disso, os parasitoides podem seguir outras pistas, como: os compostos presentes na substância utilizada para fixar os ovos do hospedeiro no substrato, nas fezes de lagartas e também de feromônios sexual e de agregação.

Por fim, como sinomônio tem-se o exemplo da interação tritrófica, em que a planta, ao ser atacada por um herbívoro, aumenta a produção dos compostos voláteis induzidos pela herbivoria (VPIHs), sendo esses percebidos pelo inimigo natural e usados na busca do seu hospedeiro. Nesse caso, tanto a planta (emissor), quanto o inimigo natural (receptor) terão benefício nessa interação; a planta porque terá seu agressor eliminado e o inimigo natural porque encontrará seu hospedeiro. Vários exemplos já foram descritos em diferentes sistemas. Podemos encontrar outros exemplos de sinomônios nas interações entre os polinizadores e as plantas. Diversos polinizadores utilizam os voláteis emitidos, principalmente, por estruturas florais para a localização de pólen e néctar, o que, conseqüentemente, auxilia na reprodução das angiospermas. A abelha *Bombus vosnesenskii* Radoszkowski, por exemplo, utiliza os compostos d-limoneno, β -mirceno e (*E*)- β -ocimeno para a localização das flores de *Mimulus lewisii* (Byers et al., 2014).

As antenas são os principais órgãos sensoriais dos insetos, mas não são os únicos. Os semioquímicos também podem ser percebidos por receptores presentes nas pernas, nos palpos labiais e em outras partes do corpo do inseto. De modo geral, os semioquímicos são detectados pelos neurônios sensoriais olfativos localizados nas sensilas presentes nas antenas dos insetos. As moléculas dos semioquímicos atravessam os poros das sensilas olfativas, se ligam a proteínas específicas, chamadas proteínas ligantes de odor (OPB, *odorant-binding proteins*) e são levadas aos dendritos dos neurônios sensoriais, ocorrendo a despolarização da membrana e a ativação da resposta do receptor (Kaissling, 2014).

Estrutura química dos semioquímicos de insetos

A estrutura química dos semioquímicos produzidos por insetos apresenta uma grande diversidade, indo desde moléculas simples, como os hidrocarbonetos alifáticos de cadeia curta, a exemplo do tridecano e undecano (componentes do feromônio de

alarme de várias espécies de percevejos), até moléculas cíclicas e bicíclicas com grupos funcionais e vários centros estereogênicos. Identificar a presença de isomeria *cis* e *trans*, isomeria absoluta e isomeria relativa principalmente nos feromônios sexual e de agregação, é de fundamental importância para determinar a bioatividade do composto em questão. Por exemplo, os machos do percevejo *E. heros* produzem como feromônio sexual um único isômero da molécula 2,6,10-trimetiltridecanoato de metila, o isômero 2*R*,6*S*,10*S* (Figura 3). Estudos comportamentais conduzidos em laboratório mostraram que as fêmeas de *E. heros* são atraídas para a mistura racêmica desse composto, a qual possui oito possíveis isômeros, não havendo nenhum efeito sinérgico ou antagônico dos outros isômeros na atração (Costa et al., 2000). Por outro lado, machos de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) produzem como feromônio de agregação uma mistura composta por seis componentes, os compostos *R*-dauceno, 2-nonanona, (*E,E*)- α -farneseno, *S*-linalol, *R*-limoneno e (*E*)-ocimeno, apresentando compostos com isomeria relativa (*cis* e *trans*) e absoluta (*R* e *S*). Os estudos comportamentais mostraram que os machos e as fêmeas de *A. diaperinus* só respondem para a mistura sintética contendo os isômeros corretos, a substituição de qualquer uma das isomerias ou o uso de misturas racêmicas faz com que haja perda na atração (Hassemer et al., 2016). Por isso é extremamente importante determinar a estereoquímica da molécula. Para exemplificar a diversidade estrutural dos semioquímicos de insetos, usaremos exemplos de três ordens megadiversas: Hemiptera, Coleoptera e Lepidoptera.

Os percevejos da família Pentatomidae (Hemiptera) são conhecidos popularmente como maria-fedida por liberarem um cheiro desagradável quando estão em uma situação de perigo; essas substâncias são classificadas como seu feromônio de alarme. Nos adultos, esses compostos são produzidos nas glândulas metatorácicas, e, nos estágios ninfais, nas glândulas abominais dorsais. Os compostos mais comumente encontrados são os (*E*)-2-alcenais e os 4-oxo-(*E*)-2-alcenais, com 6 a 10 carbonos (Figura 4). Os 4-oxo-(*E*)-2-alcenais são específicos dos Pentatomidae, e não foram, até hoje, identificados em nenhum outro organismo. As ninfas de primeiro instar produzem majoritariamente o composto 4-oxo-(*E*)-2-decenal e, em menores quantidades, os compostos 4-oxo-(*E*)-2-octenal e 4-oxo-(*E*)-2-hexenal. A partir do

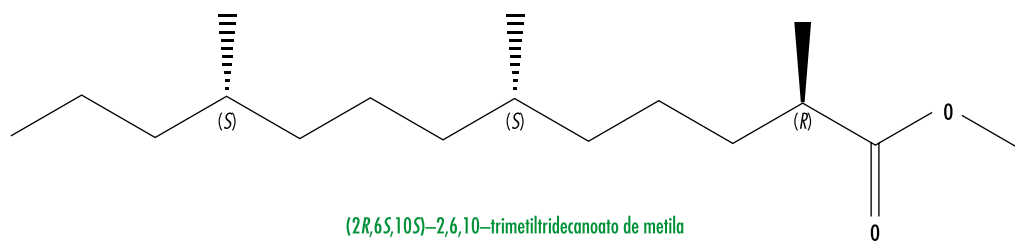


Figura 3. Estrutura química do feromônio sexual do percevejo *Euschistus heros* mostrando os três estereocentros da molécula (2*R*,6*S*,10*S*).

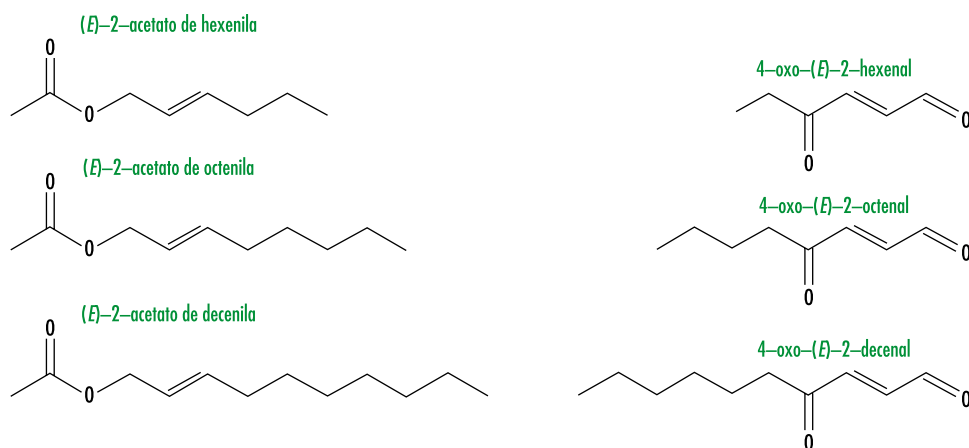


Figura 4. Estrutura química dos compostos defensivos normalmente encontrados em percevejos da família Pentatomidae.

segundo instar, diminuem ou não produzem mais o composto 4-oxo-(E)-2-decenal e aumentam a produção dos outros dois 4-oxo-(E)-2-alcenais. Já os adultos, tanto os machos quanto as fêmeas, produzem somente o 4-oxo-(E)-2-hexenal. Ademais, o isômero (Z) desses compostos, algumas vezes, é identificado em quantidades de traços. Hidrocarbonetos lineares também são muito comuns nas misturas defensivas desses insetos, desde o nC_9 até o nC_{19} . A maioria das espécies de percevejo estudadas até então, como *E. heros*, *Piezodorus guildinii* (Westwood), *Thyanta perditor* (Fabricius) *acerra*, *Chinavia* spp., *Tibraca limbativentris* Stål e *Oebalus poecilus* (Dallas), tem o tridecano como o componente mais abundante da mistura de compostos defensivos nos adultos. Já o gênero *Edessa* spp., como *Edessa meditabunda* (Fabricius), tem o undecano como o componente mais abundante. Os adultos também produzem álcoois e seus ésteres de cadeia curta (nC_6 - nC_8) e os acetatos de (E)-2-hexenila, (E)-2-octenila, e (E)-2-decenila. Além disso, dependendo da espécie, uma série de outros compostos minoritários, como pirazinas, aldeídos saturados e monoterpenos, também é produzida (Borges; Blassioli-Moraes, 2017).

As espécies Neárticas *Thyanta pallidovirens* (Stål) e *Thyanta custator acerra* (Fabricius) apresentam praticamente os mesmos componentes na glândula metatorácica: (E)-2-hexenal, 4-oxo-(E)-2-hexenal, (E)-2-acetato de hexenila, (E)-2-octenal, (E)-2-octenol, undecano, dodecano, (E)-2-acetato de octenila, tridecano, tetradecano, (E)-2-acetato de decenila e pentadecano. A única diferença é a presença do composto (E)-2-decenal em *T. custator acerra* (Mcbrien et al., 2002). Já o percevejo-praga *T. perditor*, encontrado em diferentes regiões do Brasil, tem na mistura de compostos defensivos os seguintes componentes: (E)-2-octenal, (E)-2-octen-1-ol, undecano, nonanal, dodecano, (E)-2-decenal, tridecano e pentadecano (Moraes et al., 2005). Um aspecto interessante é que muitos desses compostos são utilizados por seu inimigo natural

como informação para encontrar o hospedeiro. O aldeído (*E*)-2-hexenal é liberado em grande quantidade por vários percevejos e é usado como cairomônio pelas fêmeas do parasitoide de ovos *T. podisi* (Borges et al., 1993; Vieira et al., 2014). Contudo, diferentes espécies de percevejo muitas vezes apresentam os mesmos componentes na mistura feromonal, mas a mistura como um todo continua sendo espécie-específica, e esta especificidade é baseada na proporção entre os componentes (Figura 5).

Os compostos defensivos em Coleoptera apresentam uma diversidade muito maior quando comparados aos produzidos pelos percevejos. Vários desses compostos são produzidos na glândula pigidial. O besouro *A. diaperinus* produz três benzoquinonas como compostos defensivos, as quais também agem como feromônio de alarme, a saber: 1,4 benzoquinona, 2-metil-1,4-benzoquinona e 2-etil-1,4-benzoquinona (Figura 6) (Hassemer et al., 2015). As fêmeas do besouro *Oodes americanus* Dejean produzem como compostos defensivos os ácidos insaturados 2-metil-2-propenoico, 2-metil-2-butenico e (*E*)-2-butenico; já os machos, produzem os mesmos ácidos como compostos defensivos, porém saturados (Attygalle et al., 1991). Muitas espécies de Cicindelidae produzem como substâncias defensivas compostos aromáticos, como o benzaldeído, o ácido benzoico, o ácido fenilacético e o salicilato de metila, bem como compostos nitrogenados, 2-hidróxi-2-fenilacetona (= mandelonitrila) (Figura 6).

Além do feromônio de alarme, o feromônio sexual de insetos também apresenta grande diversidade de estruturas químicas. O feromônio sexual de lepidópteros, no geral, é produzido pelas fêmeas e pode ser dividido em dois grupos dependendo da estrutura química da molécula. A maior parte dos componentes do feromônio sexual de mariposas pertence ao Tipo I, que corresponde a compostos que apresentam estrutura carbônica linear, variando de 10 a 20 carbonos, com grupos funcionais terminais (álcool, acetato ou aldeído) e insaturações (variando até 3 insaturações) (Figura 7). Os compostos do Tipo II são hidrocarbonetos de cadeias longas de C_{17} a C_{23} , podendo apresentar ou não insaturações, e seus epóxidos (Ando et al., 2004) (Figura 7).

Dessa forma, poderíamos supor que algumas espécies de lepidópteros teriam a mesma composição do feromônio sexual, mas isso não ocorre. A mistura do feromônio sexual é sempre espécie-específica. E essa especificidade é garantida pela presença de multicomponentes, além de insaturações, ramificações, grupos metílicos e grupos funcionais nas cadeias lineares. A maior parte dos compostos pertencentes ao Tipo I apresenta número par de carbonos e isso se deve ao fato de estes serem derivados de ácidos graxos, como o ácido palmítico (C_{16} :ácido) e o ácido esteárico (C_{18} :ácido). Além disso, a maioria dessas moléculas apresenta a insaturação nos carbonos ímpares, porém a insaturação também pode ocorrer nos carbonos pares. Um exemplo típico de mariposa que libera compostos do Tipo I é o do bicho-da-seda (*Bombyx mori* Linnaeus), que foi o primeiro inseto a ter o feromônio identificado (Butenandt et al.,



Figura 5. Compostos presentes nas glândulas de adultos de percevejos da família Pentatomidae e as proporções entre os componentes.

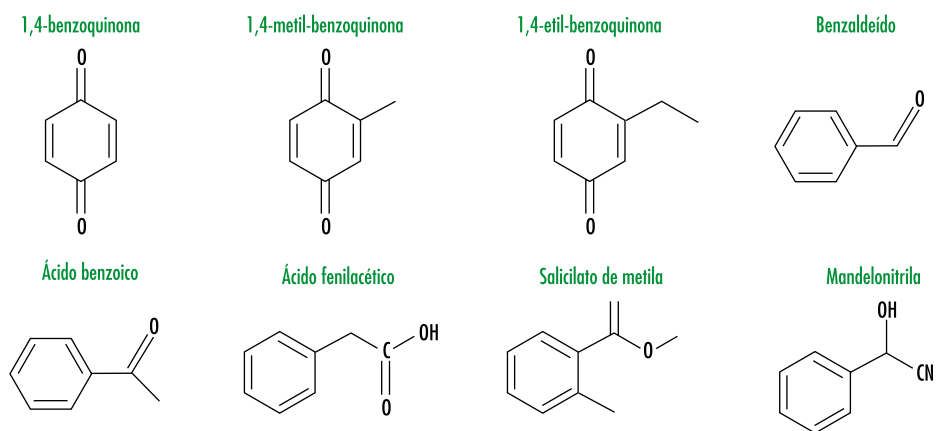


Figura 6. Estruturas químicas de compostos defensivos de Coleoptera.

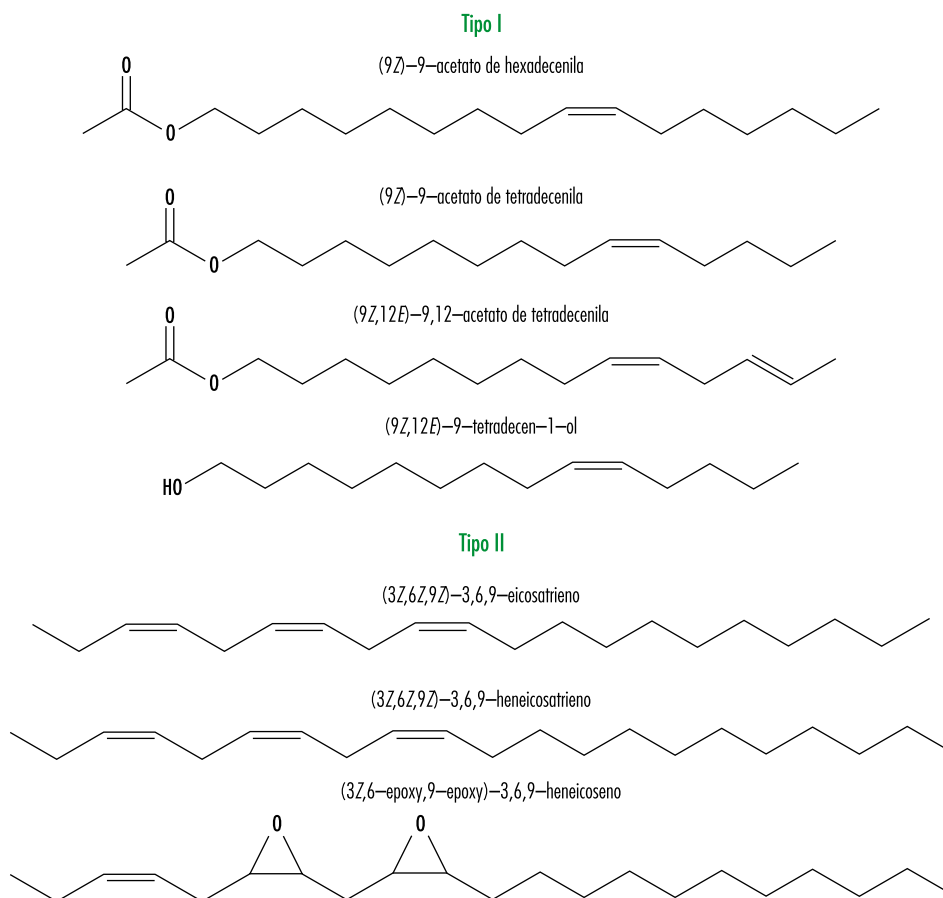


Figura 7. Estruturas químicas de moléculas do feromônio sexual de Lepidoptera.

1959), o qual foi chamado de bombicol. O bombicol contém uma cadeia linear com 16 carbonos, duas insaturações *trans* e *cis* nos carbonos 10 e 12, respectivamente, e um grupo funcional alcoólico no carbono terminal. Esse composto pode ser representado de forma abreviada como *E*10,*Z*12-16OH. O (*Z*)-7 acetato de docenila foi identificado como principal componente do feromônio sexual de *Trichoplusia ni* (Hübner) e *Chrysodeixis includens* (Walker) e em outras 24 espécies de lepidópteros. Para garantir a especificidade, *T. ni* libera outros três componentes, (*Z*)-5-acetato de docenila, (*Z*)-7-acetato de tetradecenila e (*Z*)-9-acetato de tetradecenila, e *C. includens* libera outros dois componentes, (*Z*)-7-propionato de dodecenila e o (*Z*)-7-butirato de dodecenila (Berger, 1966; Bjostad et al., 1984). O primeiro composto do Tipo II foi identificado na mariposa *Estigmene acrea* e corresponde ao *cis*-9,10-epóxi-(*Z,Z*)-3,6 heneicosadieno (Hill; Roelofs, 1981). Esse composto também foi identificado em mais de 65 espécies de mariposas, principalmente nas famílias Geometridae, Noctuidae, Lymantriidae e Arctiidae.

Na ordem Hemiptera, a diversidade estrutural dos componentes do feromônio sexual é muito maior do que a observada em Lepidoptera e não há padrões estabelecidos para famílias ou subfamílias. Diferentemente dos lepidópteros, os estudos vêm mostrando que são os machos que emitem o feromônio sexual. Os gêneros *Chinavia* e *Nezara* compartilham os mesmos componentes na mistura do feromônio sexual: os compostos *trans*-(*Z*)-epóxi-bisaboleno e seu isômero *cis* (Baker, 1985; Aldrich et al., 1987, 1991; McBrien et al., 2001). Já foram identificados os feromônios sexuais de seis populações de *Nezara viridula* (Linnaeus) de diferentes regiões do mundo e seis espécies do gênero *Chinavia*, todas compartilhando os mesmos dois epóxi-bisabolenos. Novamente, o que confere a especificidade é a diferente proporção entre os componentes (Aldrich et al., 1989; McBrien et al., 2001; Moraes et al., 2008; Blassioli-Moraes et al., 2012).

No percevejo-marrom (*E. heros*), foram identificados três acetatos específicos do macho, 2,6,10-trimetiltridecanoato de metila, (2*E*,4*Z*)-2,4-decadienoato de metila e 2,6,10-trimetildodecanoato de metila. Bioensaios em laboratório e testes de campo mostraram que as fêmeas de *E. heros* são atraídas pelo componente 2,6,10-trimetiltridecanoato de metila, sendo a presença dos outros dois componentes desnecessária para a atração (Borges et al., 1998, 1999a, 1999b). O composto 2,6,10-trimetiltridecanoato de metila tem três centros estereogênicos, portanto tem oito estereoisômeros possíveis (Figura 3). Para identificar qual a configuração absoluta do composto produzido pelo inseto, os oito estereoisômeros foram sintetizados e testados em laboratório, o que culminou na identificação da configuração absoluta do composto produzido pelos machos da população brasileira como sendo o isômero (2*S*,6*R*10*S*)-2,6,10-trimetiltridecanoato de metila (Mori; Murata, 1994; Costa et al., 2000).

Em Coleoptera, a produção do feromônio sexual é realizada tanto por machos quanto por fêmeas, dependendo da espécie. Os compostos identificados até hoje podem ser divididos em duas categorias: uma de origem terpênica, com a condensação de unidades do mevalonato e homomevalonato, gerando os monoterpênicos lineares ou com cadeias cíclicas; e outra, mais comum, derivada da condensação de unidades de acetatos e propionatos, que geram compostos com um ou mais grupos funcionais, epóxi, álcoois e/ou cetonas, com cadeias lineares curtas de C_5 a C_{12} . O bicudo-do-algodoeiro (*A. grandis*), por exemplo, tem quatro componentes no feromônio de agregação com função sexual e todos são derivados do mevalonato. Os dois principais componentes são álcoois terpênicos, o álcool grandisol 2-(1*R*,2*S*)-1-metil-2-(prop1-em-2-il)-ciclobutil) etanol e o álcool (*Z*)-2-(3,3-dimetilcicloexilideno) etanol e em menores quantidades dois aldeídos terpênicos, os (*Z*)-2-(3,3-cicloexilideno) acetaldeído e (*E*)-2-(3,3-cicloexilideno) acetaldeído (Tumlinson et al., 1971). Outro besouro do mesmo gênero, o *Anthonomus eugeni* Cano, não produz o grandisol, mas produz os outros três componentes liberados pelo bicudo-do-algodoeiro, além de mais três componentes: (*E*)-2-3,3-dimetil-delta-1-ciclohexanoetanol, geraniol e ácido gerânico (Eller et al., 1994). Os besouros-pragas de coqueiros *Dynamis borassi* (Linnaeus) e *Rhynchophorus palmarum* (Linnaeus) produzem como feromônio de agregação os compostos (4*S*,5*S*)-4-metil-5-nonanol e (2*E*,4*S*)-6-metil-2-hepten-4-ol, respectivamente, além de outros dois componentes específicos dos machos, os compostos 2,3 epóxi-6-metil-4-heptanol e 4-metil-5-nonanol (Oehlschlager et al., 1992, 1995).

Semioquímicos de plantas

Nas plantas, os semioquímicos derivam do metabolismo secundário e podem ser tanto compostos voláteis quanto não voláteis. Essas substâncias são produzidas a partir de diferentes precursores e, por causa disso, são classificadas de acordo com as vias biossintéticas em três classes principais: os terpenos, os compostos nitrogenados e os compostos fenólicos.

Os terpenos constituem a classe mais abundante de metabólitos secundários. São biossintetizados a partir da acetil coenzima A ou de intermediários glicolíticos, formados pela fusão de unidades isoprênicas (5 carbonos) e, portanto, podem ser classificadas de acordo com a quantidade dessas unidades em: monoterpênicos (10 carbonos), sesquiterpênicos (15 carbonos), diterpênicos (20 carbonos), triterpênicos (30 carbonos) e tetraterpênicos (40 carbonos). Além desses, formas irregulares de terpenos são formadas a partir de esqueletos acíclicos de carbonos C_{16} e C_{11} chamadas de homoterpênicos. Os terpenos são formados a partir de duas principais rotas bios-

sintéticas, a rota do ácido mevalônico (MVA) no citoplasma e a rota do metileritritol fosfato (MEP), nos cloroplastos e outros plastídios. Esses compostos são encontrados geralmente em misturas complexas, como os óleos essenciais, e são fixados em estruturas especializadas como os dutos de resina em coníferas e os tricomas glandulares nas angiospermas. O monoterpene citronelal, por exemplo, é produzido pelo capim-limão (*Cymbopogon citratus*) e a citronela (*Cymbopogon* sp.) e tem ação inibitória no crescimento de outras plantas, a exemplo do picão-preto (*Bidens pilosa*) e do fedegoso (*Cassia occidentalis*) (Singh et al., 2006). Já a produção do sesquiterpene (*E,E*)- α -farneseno por plantas de soja (*Glycine max*) é capaz de atrair vespas dos gêneros *Telenomus* e *Trissolcus*, que são inimigos naturais de herbívoros, como os percevejos e as mariposas, agindo, portanto, como sinomônios (Michereff et al., 2013). Os terpenos voláteis emitidos pelas plantas também podem agir como caio-mônio atraindo os herbívoros, como observado em plantas de algodão que atraem o curculionídeo bicudo-do-algodoeiro (*A. grandis*) (Magalhães et al., 2012, 2016, 2018). Os terpenos, principalmente os sesquiterpenos e os monoterpeneos (Figura 8), estão envolvidos na defesa indireta das plantas. Esses compostos servem como sinais indicativos de injúria de herbivoria e, no geral, são liberados algumas horas após a herbivoria. Dentre os terpenos não voláteis, podemos citar os triterpenos, como os limonoides, os cardenólídeos e as saponinas, os quais agem, principalmente, como alomônios. No grupo dos limonoides, a azadiractina, também conhecida como nim, tem um efeito deterrente na alimentação de várias espécies de insetos, sendo bastante utilizada na agricultura como inseticida natural. Os cardenólídeos são esteroides derivados de triterpenos amplamente distribuídos em plantas do gênero *Asclepias* (Apocynaceae). Sua ação inibe o funcionamento da bomba de sódio-potássio, uma importante enzima que auxilia na manutenção do potencial de membrana de mui-

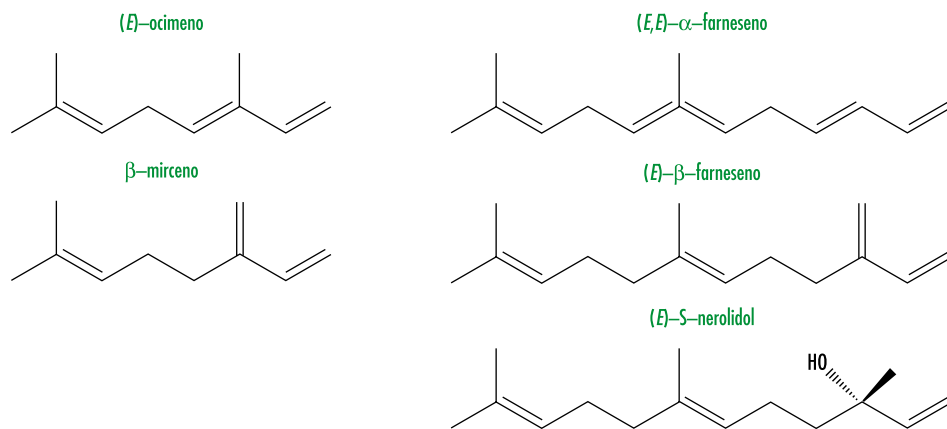


Figura 8. Estruturas químicas de dois monoterpeneos e três sesquiterpenos, produtos do metabolismo secundário de plantas.

tas células animais. Em lagartas de *T. ni*, por exemplo, a ingestão de cardenolídeos leva à convulsão, imobilidade e perda de controle muscular (Dussourd; Hoyle, 2000). As saponinas são altamente tóxicas a várias espécies de insetos, pois formam complexos com esteroides dificultando a sua absorção e desorganizando as membranas celulares após entrar no sistema circulatório. Mas além do efeito negativo em insetos, as saponinas também são tóxicas a fungos. Em folhas de chá (*Camellia oleifera*), a presença desses compostos tem efeito inibitório no desenvolvimento do fungo *Bipolaris maydis*, afetando a morfologia micelial e provocando um rompimento nas paredes celulares (Zhang et al., 2014).

Os compostos nitrogenados são produzidos a partir da rota do ácido chiquímico ou a partir de aminoácidos comuns como a lisina, a tirosina e o triptofano. Nessa classe, destacam-se os alcaloides, como a cafeína, a nicotina e os alcaloides pirrolizidínicos, e os glicosídeos cianogênicos, todos amplamente conhecidos por sua toxicidade (alomônios) e propriedades medicinais. Nas Brassicaceae, os glucosinolatos são percebidos e agem como estimulantes de oviposição e alimentação em mais de 25 espécies de herbívoros especialistas, como dípteros, lepidópteros e coleópteros. Em razão da alta toxicidade dos compostos provenientes do metabolismo secundário, as plantas desenvolveram estratégias que as permitem armazená-los. Em plantas de sorgo, o glicosídeo cianogênico durrina está presente em vacúolos na epiderme; já as enzimas capazes de catalisá-lo, provocando a liberação do ácido cianídrico, são encontradas no mesófilo, de forma que, somente quando a planta é danificada, há a formação desse gás tóxico.

Outro grupo importante de metabólitos secundários proveniente da rota do ácido chiquímico são os compostos fenólicos, cuja estrutura mais simples é constituída basicamente por um anel aromático ligado a um grupo funcional hidroxila (fenol). Muitos desses compostos atuam na defesa contra a ação de herbívoros e patógenos, enquanto outros são responsáveis pela atração de polinizadores e dispersores de sementes, pela proteção à radiação ultravioleta e pela inibição do crescimento de plantas vizinhas (alelopatia). Os flavonoides correspondem à maior classe de compostos fenólicos em plantas, sendo os principais grupos as antocianinas, as flavonas, os flavonóis e as isoflavonas. Os três primeiros grupos estão envolvidos na pigmentação de estruturas vegetais, como flores e frutos, mediando importantes interações com organismos polinizadores e dispersores de sementes. Já as isoflavonas ou isoflavonoides, podem desencadear efeitos diversos na biologia dos organismos. Estudos vêm mostrando que isoflavonoides específicos podem ter efeito deletério para algumas espécies de herbívoros (Graça et al., 2016). No entanto, esse efeito nem sempre é observado. O percevejo *E. heros*, por exemplo, se adapta melhor a variedades de soja com maiores quantidades de isoflavonoides do que àquelas com menores quantida-

des (Michereff et al., 2011). Além dos flavonoides, os taninos também são compostos fenólicos que medeiam diversas interações ecológicas. Geralmente, são toxinas que podem afetar o desenvolvimento e a sobrevivência de herbívoros e microrganismos. Por exemplo, os taninos condensados catequina, galocatequina e vanilina afetam o desenvolvimento larval de lagartas de *Operophtera brumata* Linnaeus, que se alimentam de folhas do carvalho *Quercus robur* (Feeny, 1968). Outros grupos importantes de compostos fenólicos são encontrados em plantas, como os monoterpenos fenólicos, a exemplo do timol e carvacrol, os quais são produzidos por várias espécies do gênero *Origanium*, por exemplo, e apresentam alta toxicidade, sendo capazes de inibir a alimentação de lagartas de *Spodoptera littoralis* (Boisduval), atuando como alomônios (Pavela, 2011). Já o ácido 4-hidroxibenzoico, produzido pelas flores da erva-chinesa *Elsholtzia rugulosa*, é capaz de atrair espécies de abelhas polinizadoras como *Apis cerana* Fabricius, agindo como sinomônio (Zhang et al., 2016). O indol, um dos principais compostos induzidos por herbivoria de lagartas de *Spodoptera* spp. nas plantas de milho, por sua vez, age na comunicação planta-planta, ativando a defesa indireta nas plantas vizinhas (Erb et al., 2015).

Existem grupos que não se encaixam nas categorias citadas, porém desempenham papel importante nas interações das plantas com os demais organismos, como os compostos derivados de ácidos graxos, principalmente dos ácidos linoleico e linolênico, provenientes da rota das lipoxigenases. A quebra desses ácidos é feita pela enzima lipoxigenase, e os produtos dessa quebra podem entrar em diferentes rotas metabólicas: podem ser usados para a síntese do ácido jasmônico, um importante fito-hormônio de defesa envolvido nas respostas induzidas, ou produzirem os voláteis verdes de plantas (*green leaf volatiles*), pequenas moléculas com seis carbonos com diferentes grupos funcionais como álcoois, ésteres e aldeídos. Esses pequenos compostos são os primeiros a serem liberados quando ocorre dano mecânico ou por herbivoria, sinalizando uma injúria recente. Os mais comuns são o (*Z*)-3-hexen-1-ol, (*E*)-2-hexen-1-ol, (*E*)-2-hexenal e o acetato de (*Z*)-3-hexen-1-ila (Figura 9).

Nas plantas, é por meio de receptores presentes na membrana plasmática que as mudanças ambientais são percebidas, dando início a uma cascata de sinalização elétrica que culmina nas diferentes respostas exibidas por esses organismos. Assim, as injúrias mecânicas, as infecções por patógenos e a herbivoria desencadeiam a liberação de sinalizadores derivados da parede celular que se ligam aos receptores de membrana da planta. A interação entre os sinalizadores e os receptores resulta na diferença do gradiente eletroquímico entre o interior e o exterior da célula, promovendo despolarizações, que levam à expressão gênica. Os principais íons responsáveis por essas variações no gradiente eletroquímico, decorrentes de estresses bióticos, são o cálcio (Ca^{2+}), o hidrogênio (H^+), o potássio (K^+) e o cloro (Cl^-). Além

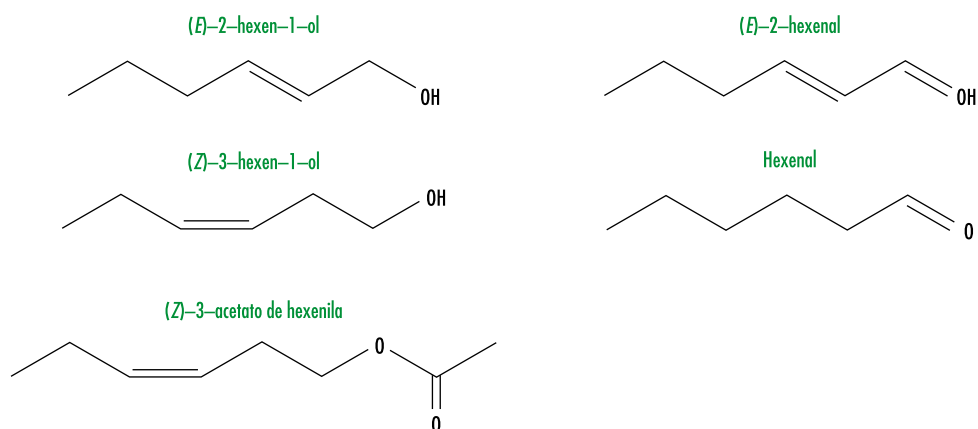


Figura 9. Estruturas químicas dos principais voláteis verdes de planta.

da resposta ao efeito direto da ação de herbívoros e patógenos, as plantas também são capazes de responder a compostos orgânicos voláteis (COVs) produzidos por elas mesmas (de modo sistêmico), bem como por aqueles produzidos pelas plantas vizinhas, nesse caso, sem que haja contato prévio com o causador da injúria.

CUSTO ENERGÉTICO DA PRODUÇÃO

O custo energético proveniente da produção dos semioquímicos pelos organismos ainda é pouco estudado. No entanto, para os insetos, alguns aspectos já foram elucidados. Em diferentes espécies de Lepidoptera, por exemplo, já foi demonstrado que fêmeas mais velhas produzem maior quantidade de feromônio do que aquelas mais jovens. Com o avanço da idade, o gasto energético na produção do feromônio é vantajoso para garantir o acasalamento no tempo restante de vida, uma vez que essas fêmeas não precisam mais alocar recursos para o seu desenvolvimento. Uma maior produção do feromônio pelas fêmeas implica em menor tempo de sobrevivência, entretanto ainda não se sabe se esse gasto energético está relacionado à biossíntese do feromônio em si, ou ao processo de liberação do feromônio (Harari et al., 2011). Para a liberação do feromônio, essas fêmeas assumem a posição de chamamento, em que elas abrem as asas, erguem o abdome e expõem a glândula que armazena a mistura feromonal. Além desse padrão comportamental, elas ainda podem executar pequenos voos. Todos esses comportamentos, obviamente, implicam em gastos energéticos. No caso dos percevejos e coleópteros, não há estudos sobre os custos energéticos, mas pode haver um custo ecológico, já que muitos parasitoides e predadores utilizam os semioquímicos emitidos por esses organismos como pistas para encontrar seus

hospedeiros (Borges; Blassioli-Moraes, 2017). Dessa forma, espécies que produzem grandes quantidades de feromônio podem ser localizadas mais facilmente por seus inimigos naturais, implicando em maior custo ecológico para esses organismos.

No caso das plantas, também há um custo energético na produção de aleloquímicos para a defesa indireta e direta. Quando elas são danificadas por herbivoria, por exemplo, alocam energia para a produção e liberação dos metabólitos secundários em detrimento do seu desenvolvimento. Assim, para minimizarem os gastos com a defesa química induzida, as plantas desenvolveram um sistema de defesa de alerta (Hilker et al., 2016; Borges et al., 2017). No estado de alerta, as plantas ao perceberem sinais de perigo, que podem ser uma herbivoria momentânea ou a percepção de voláteis emitidos por plantas vizinhas que estão sob ataque de herbivoria, ativam as enzimas e genes envolvidos na defesa química entrando em um estado de pré-produção de metabólitos secundários. Quando sofrem um segundo estresse, ativam o sistema de defesa mais rápido e/ou mais intensamente, e nesse caso, o gasto energético é menor do que se a planta ativasse os sistemas de defesa diretamente, sem passar pelo estado de alerta (Hilker et al., 2016).

MECANISMOS E MODO DE AÇÃO

Na natureza, as interações entre os organismos são complexas e essa complexidade deve também ser considerada nos estudos envolvendo os semioquímicos, principalmente, naqueles que visam ao uso desses compostos como uma ferramenta alternativa dentro de um programa de Manejo Integrado de Pragas (MIP). Atualmente, vários estudos vêm sendo conduzidos para compreender essas interações nos mais diversos sistemas.

Imagine uma planta de milho em um agroecossistema, no qual está sujeita ao ataque de inúmeros herbívoros e patógenos que irão influenciar na dinâmica de interações com a comunidade circundante. Quando essa planta sofre herbivoria de uma lagarta, por exemplo, a resposta a esse ataque pode se dar pelo aumento na produção dos compostos voláteis, que passam a ser chamados de voláteis de planta induzidos pela herbivoria (VPIHs). Esses compostos têm um papel importante na comunicação planta-planta, de modo que as plantas coespecíficas adjacentes podem sofrer um aumento na produção de seus compostos voláteis, causado pela percepção dos VPIHs. Assim, as plantas de milho vizinhas, que recebem os VPIHs, entram em estado de alerta (do inglês *priming*), isto é, respondem mais prontamente quando sofrem herbivoria, através da produção de uma maior quantidade de voláteis, em

comparação a plantas que não receberam os VPIHs ou receberam os voláteis de uma planta vizinha sem injúria (Borges et al., 2017). Ademais, plantas em *priming* podem, ainda, antecipar a resposta à herbivoria: uma planta que demora 96 horas para ser induzida a produzir voláteis, o faz com 72 horas. Os estudos de *priming* com plantas de milho permitiram identificar que o composto aromático indol desempenha um papel importante nesse processo. Juntamente com outros compostos, o indol é produzido em resposta ao ataque de herbivoria da lagarta *Spodoptera frugiperda* (Smith); no entanto, ele é o composto-chave para a entrada no estado de alerta (Erb et al., 2015). Dessa forma, a aplicação exógena de um padrão sintético do indol em plantas de milho sem injúria pode promover um aumento na produção de compostos voláteis induzidos.

Os VPIHs podem ainda atuar na atração de inimigos naturais, quer sejam parasitoides, quer sejam predadores. Os voláteis liberados por plantas de milho com injúria de herbivoria das lagartas do gênero *Spodoptera* atraem os parasitoides de ovos *Cotesia marginiventris* Cresson e *Telenomus remus* Nixon; agindo como sinônimos, pois auxiliam as plantas no combate aos herbívoros e permitem que os parasitoides encontrem possíveis hospedeiros (D'Alessandro; Turlings, 2005; Peñaflor et al., 2011; Michereff et al., 2019). O mesmo pode acontecer na rizosfera: os voláteis liberados pelas raízes de plantas de milho em decorrência da herbivoria de larvas do besouro *Diabrotica virgifera virgifera* Le Conte são atrativos ao seu inimigo natural, o nematoide *Heterorhabditis megidis* (Hiltpold et al., 2010).

Os inimigos naturais, além de usarem pistas indiretas emitidas pelas plantas, também podem usar pistas diretamente emitidas pelas próprias presas/hospedeiros, como já observado nos exemplos de cairomônios. O parasitoide de ovos *T. podisi* é atraído pelos compostos encontrados no extrato dos ovos de *E. heros* (Michereff et al., 2016), bem como para os voláteis das plantas de soja (Michereff et al., 2011). Em outras situações, alguns parasitoides de ovos “preveem” futuras oviposições, ao serem atraídos por feromônios dos insetos. Os parasitoides de ovos do gênero *Trichogramma* utilizam o feromônio sexual da mariposa *Heliothis virescens* (Fabricius) (Xu et al., 2014) e também o feromônio antiafrodisiaco de *Pieris* sp. (Fatouros; Huigens, 2012) para localizarem o hospedeiro de maneira indireta, uma vez que, após o acasalamento, as fêmeas da mariposa depositarão seus ovos.

É importante entender que todos esses eventos podem acontecer de maneira concomitante. Desse modo, as ações dos diferentes agentes (herbívoros ou patógenos) podem influenciar toda uma comunidade associada. Os microrganismos presentes no solo, como a bactéria *Enterobacter aerogenes*, colonizam as plantas de milho, induzindo-as a produzir o composto volátil 2,3-butanodiol; que, juntamente com outros compostos, aumenta a resistência do milho ao fungo patogênico

Setosphaeria turcica, mas não a lagartas de *S. littoralis*. Esse composto também é emitido em grande quantidade pelas folhas da planta, e o ataque de herbivoria de *S. littoralis* intensifica sua emissão. A presença de 2,3-butanodiol na rizosfera faz com que a planta emita voláteis que atuam na atração do parasitoide de lagarta, *C. marginiventris*. Dessa forma, apesar de não afetar diretamente o herbívoro, esse composto ativa a defesa indireta do milho atraindo o inimigo natural de *S. littoralis* (D'Alessandro et al., 2014). Estudos que contemplem uma maior complexidade nas teias de interações entre os múltiplos organismos de um dado sistema são importantes para a compreensão da evolução dos mecanismos que governam as interações multitróficas de uma maneira mais realista.

A comunicação química entre organismos, seja em sistemas naturais, seja em agrícolas, é extremamente complexa envolvendo diferentes espécies dentro de um ecossistema, e o maior desafio para os cientistas é desvendar como ocorre a comunicação e quais moléculas químicas estão envolvidas nesse processo. Um ponto que ainda não está muito bem esclarecido é a atração cruzada por armadilhas com feromônios sexuais. A ação do feromônio sexual, na maior parte dos insetos, é espécie-específica, atraindo somente a espécie-alvo. No entanto, vários experimentos conduzidos no campo vêm mostrando que ocorre atração cruzada. Isso é bastante comum em mariposas, mas também tem ocorrido em outros táxons, como em percevejos Pentatomidae. Algumas espécies são atraídas pelo feromônio de outras espécies que produzem misturas com estrutura química muito semelhante. Nesse caso, entendemos que ocorra a atração, uma vez que as proteínas ligantes de feromônio podem se ligar a moléculas diferentes com estruturas químicas semelhantes. O percevejo-da-soja (*Nezara antennata* Scott) é atraído à mistura feromonal de *Nezara viridula*. Ambas as espécies produzem como feromônio sexual dois isômeros do epóxi-bisaboleno, a diferença está somente na proporção desses isômeros. No entanto, algumas espécies são atraídas para o feromônio sexual de outras espécies com estrutura química completamente diferente, como no caso de *N. viridula*, que é atraído ao feromônio de *T. perditor*. *Nezara viridula* produz o sesquiterpeno oxigenado (epóxi-bisaleno) como feromônio, e o percevejo *T. perditor* produz um éster, o composto (2E,4Z,6Z)-2,4,6-decatrienoato de metila.

PROGRAMAS DE USO DE SEMIOQUÍMICOS

Ao longo de quase 60 anos de estudos – a partir da identificação do primeiro feromônio, o feromônio sexual da mariposa *B. mori* –, a utilização de semioquímicos tanto no monitoramento quanto no controle de pragas vem crescendo gradativamente e ganhando espaço em áreas como a agricultura, a pecuária e a de saúde pública.

Os semioquímicos de insetos, microrganismos e plantas são compostos que já existem na natureza e sua aplicação prática acontece dentro do contexto em que essas moléculas ocorrem naturalmente, de modo que a interferência no meio ambiente se dá de maneira específica, normalmente sem danos aos organismos não alvo.

Uma vez sintetizados em laboratório, podem ser utilizados em campo através de diferentes liberadores que simulam a taxa e a concentração emitidas pelos organismos. Outra alternativa é usar o organismo vivo, como as plantas, como liberadores. Um exemplo prático e de sucesso é o sistema de consórcio atraindo-repele (do inglês *push-pull*) utilizado no Quênia para o controle do complexo de mariposas *Chilo partellus* e *Busseola fusca* e da erva-daninha *Striga hermonthica* em cultivos de milho. As plantas de milho são plantadas em consórcio com a leguminosa *Desmodium uncinatum* e com a gramínea *Pennisetum purpureum*, em que a leguminosa *D. uncinatum* tem efeito alelopático inibindo o desenvolvimento da erva-daninha, ao mesmo tempo que emite compostos voláteis que repelem as mariposas. Já *P. purpureum* libera voláteis que atraem essas mariposas, a qual prefere ovipositar nessa gramínea do que nas plantas de milho. Além disso, *P. purpureum* secreta uma substância pegajosa que impede que as lagartas completem o seu desenvolvimento; portanto, *P. purpureum* é plantada na bordadura da cultura, mantendo as mariposas longe da cultura principal. Dessa forma, consegue-se controlar a erva-daninha e ao mesmo tempo manter a população de *C. partellus* abaixo do nível de dano (International Centre of Insect Physiology and Ecology, 2013). Esse sistema já foi implementado em várias regiões do Quênia e é o primeiro a utilizar os semioquímicos in natura, proporcionando um rendimento de produção em média cinco vezes maior quando comparado a produção antes da implementação do *push-pull* e livre de agrotóxicos (Khan et al., 2008).

Em programas de controle biológico, os semioquímicos utilizados para atração e retenção de predadores e parasitoides podem levar ao aumento da eficiência de técnicas de liberação massal. A localização da presa/hospedeiro é um dos passos mais importantes no uso dos recursos por insetos entomófagos. Em particular, para insetos parasitoides, este é um processo complexo que inclui diferentes etapas: a localização do habitat do hospedeiro, a localização do hospedeiro, o reconhecimento do hospedeiro e a aceitação do hospedeiro. Na maioria das espécies de parasitoides, essas etapas são mediadas por semioquímicos. Em muitos casos, os inimigos naturais utilizam pistas químicas que não são produzidas diretamente pelo estágio alvo do hospedeiro, mas que têm origem em alguma atividade do adulto, tais como o feromônio sexual, o de agregação e o de alarme, ou os sinais provenientes de plantas em que esses herbívoros se encontram (Blassioli-Moraes et al., 2016).

Em âmbito mundial, a utilização de semioquímicos em diferentes áreas tem aumentado progressivamente (Witzgall et al., 2010). Segundo o consultor Dr. Owen Jones (Lisk & Jones Consultants, 2017), em 2013 a área tratada com feromônio foi de

aproximadamente 1 milhão de hectares, com um valor de mercado acima de 300 milhões de dólares. Nos últimos cinco anos, o mercado de semioquímicos tem crescido a uma taxa anual de 17%, crescimento esse ligeiramente maior do que o observado para os biopesticidas. O mercado global em 2016, por exemplo, movimentou 430 milhões de dólares (Products and Trends, 2017). No Brasil, o governo federal e as empresas que comercializam os semioquímicos não disponibilizam informações públicas que comprovem o aumento das vendas e seu uso no campo. Mas como o número de empresas no País que trabalham com semioquímicos tem aumentado, acredita-se que o consumo desses produtos pelos agricultores também o tenha. Atualmente, existem ações pontuais de associações de agricultores que promovem o uso de métodos menos agressivos ao meio ambiente para o controle e o monitoramento de pragas. Na cultura da maçã, o uso do feromônio da mariposa *Cydia pomonella* é empregado com sucesso há vários anos. Também há registro de uso de feromônios para o monitoramento do bicudo-do-algodoeiro (*A. grandis*), da broca-da-banana (*Cosmopolites sordidus*), da broca-do-coqueiro (*R. palmarum*) e das mariposas *S. frugiperda* e *Helicoverpa armigera*. Recentemente, o feromônio do percevejo-marrom-da-soja (*E. heros*) começou a ser comercializado pela empresa ChemTica, da Costa Rica. Além dos insetos, há registro de uso de feromônio para outros animais, como o Secure Pig – um feromônio “materno” que faz os leitões se sentirem mais seguros quando são retirados de perto da mãe para o desmame e a engorda.

O mercado de semioquímicos registrou um amplo comércio para 34 diferentes espécies de insetos (Witzgall et al., 2010). Na Europa, o controle de *Lobesia botrana* em videiras, nas últimas duas décadas, foi conduzido basicamente com o uso do seu feromônio sexual. A área tratada com o feromônio saiu de menos de cem hectares em 1992, para mais de mil hectares em 2001, quando a quantidade de inseticida utilizada para o controle dessa praga caiu a quase zero – para o mesmo nível de dano da mariposa nas videiras (Witzgall et al., 2010). Apesar da falta de dados para a América do Sul e Ásia, estima-se que em torno de 20 milhões de liberadores com moléculas feromonais são vendidos mundialmente por ano (Witzgall et al., 2010).

DESAFIOS E PERSPECTIVAS

O estudo dos semioquímicos, especialmente feromônios sexuais, tem aberto excelentes possibilidades para o seu emprego no manejo de pragas, e vários programas que os utilizam têm sido implementados. Essas possibilidades geram grande demanda por estudos relacionados à identificação de semioquímicos não só envolvidos no comportamento reprodutivo do inseto-alvo, mas como também

os envolvidos na busca por alimento, sítios de oviposição e na interação com outros insetos e plantas. É por meio desses conhecimentos que novas estratégias de manejo comportamental poderão ser aprimoradas.

Os semioquímicos mais utilizados hoje no mundo são os feromônios, que já constituem uma ferramenta importante no manejo de pragas. A sua utilização tem diminuído ou mesmo eliminado as aplicações de inseticidas, reduzindo assim o nível de intoxicações pelos trabalhadores rurais e o teor de resíduos químicos nos produtos de origem agrícola e nos agroecossistemas. Os feromônios oferecem várias vantagens no seu uso: eles são espécie-específicos, agindo somente sobre a espécie-alvo, tem uma forte ação em quantidades diminutas na ordem de nanogramas ou menos, e, na sua maioria, não são tóxicos para outros organismos. O uso do feromônio ao longo dos anos não elimina a praga totalmente, mas diminui a sua população para abaixo do nível de dano econômico. Diferentemente do inseticida, que, ao longo de décadas de uso em várias culturas, não há observações de que haja diminuição das populações de pragas de um ano para o outro em razão das taxas de resistência. Já com o feromônio, esse fenômeno pode ser observado e isso se deve principalmente ao restabelecimento da fauna dos insetos benéficos e ao aumento da eficácia do feromônio para monitoramento e controle das pragas com baixas densidades populacionais (Witzgall et al., 2010; Borges et al., 2011).

O uso de semioquímicos como um método direto de controle de pragas ou para o monitoramento de populações pode contribuir para prevenir o uso indiscriminado de inseticidas (Borges et al., 2011; Borges; Blassioli-Moraes, 2017). Nesse contexto, os semioquímicos podem ser utilizados para: a) melhorar a eficiência dos pesticidas convencionais, por meio da detecção e monitoramento das populações de insetos-praga com armadilhas tratadas com feromônios; b) suprimir as populações de pragas com o uso de métodos diretos de captura massal em armadilhamento com atrativos; c) aplicar a técnica de confundimento (saturação da atmosfera com semioquímicos de forma a impedir a localização do sexo oposto para acasalamento); e d) implementar o uso de plantas com ação repelente e/ou atrativa às pragas e inimigos naturais, em consórcio com a cultura de interesse. Como principais vantagens dos semioquímicos no controle de pragas, destacam-se:

- Contribui para preservação do meio ambiente.
- Detecta focos e indica o nível de infestação e o seu crescimento.
- Determina o local e o momento para o controle.
- Verifica se o inseto está adquirindo resistência ao inseticida.
- Reduz custos para o controle de pragas.
- Diminui o impacto sobre os predadores e inimigos naturais.

- Diminui os resíduos de inseticidas no ambiente e nos alimentos.
- Pode levar ao aumento da população de parasitoides e predadores.

O desenvolvimento de produtos à base semioquímicos abre uma nova perspectiva para a agricultura e o MIP: 1) o uso dos semioquímicos sintéticos são patenteáveis; 2) torna os produtos brasileiros mais competitivos para exportação; e 3) beneficia diretamente o consumidor (alimentos mais saudáveis) e o meio ambiente.

REFERÊNCIAS

- ALDRICH, J. R.; HOFFMANN, M. P.; KOCHANSKY, J. P.; LUSBY, W. R.; EGER, J. E.; PAYNE, J. A. Identification and attractiveness of a major pheromone component for Nearctic *Euschistus* spp. stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae). **Environmental Entomology**, v. 20, n. 2, p. 477-483, Apr. 1991. DOI: 10.1093/ee/20.2.477.
- ALDRICH, J. R.; LUSBY, W. R.; MARRON, B. E.; NICOLAOU, K. C.; HOFFMANN, M. P.; WILSON, L. T. Pheromone blends of green stink bugs and possible parasitoid selection. **Naturwissenschaften**, v. 76, n. 4, p. 173-175, Apr. 1989. DOI: 10.1007/BF00366402.
- ALDRICH, J. R.; OLIVER, J. E.; LUSBY, W. R.; KOCHANSKY, J. P.; LOCKWOOD, J. A. Pheromone strains of the cosmopolitan pest *Nezara viridula* (Heteroptera: Pentatomidae). **Journal of Experimental Zoology**, v. 244, p. 171-175, Oct. 1987. DOI: 10.1002/jez.1402440121.
- ANDO, T.; INOMATA, S.-I.; YAMAMOTO, M. Lepidopteran sex pheromones. In: SCHULZ, S. (Ed.). **The chemistry of pheromones and other semiochemicals**. Berlin: Springer, 2004. p. 51-96. (Topics in current chemistry, 239). DOI: 10.1007/b95449.
- ATTYGALLE, A. B.; BLANKESPOOR, C. L.; MEINWALD, J.; EISNER, T. Defensive secretion of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Chemical Ecology**, v. 17, n. 4, p. 805-809, Apr. 1991. DOI: 10.1007/BF00994202.
- BAKER, T. C. Behavioral analysis of pheromones. In: ACREE, T. E.; SODERLUND, D. M. (Ed.). **Semiochemistry: flavors and pheromones**. Berlin: Walter de Gruyter & Co., 1985. p. 141-168. DOI: 10.1515/9783110885040-009.
- BENNETT, R. J.; UHL, M. A.; MILLER, M. G.; JOHNSON, A. D. Identification and characterization of a *Candida albicans* mating pheromone. **Molecular and Cellular Biology**, v. 23, n. 22, p. 8189-8201, Nov. 2003. DOI: 10.1128/MCB.23.22.8189-8201.2003.
- BERGER, R. S. Isolation, identification, and synthesis of the sex attractant of the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 59, n. 4, p. 767-771, Jul. 1966. DOI: 10.1093/aesa/59.4.767.
- BJOSTAD, L. B.; LINN, C. E.; DU, J.-W.; ROELOFS, W. L. Identification of new sex pheromone components in *Trichoplusia ni*, predicted from biosynthetic precursors. **Journal of Chemical Ecology**, v. 10, n. 9, p.1309-1323, Sept. 1984. DOI: 10.1007/BF00988113.
- BLASSIOLI-MORAES, M. C.; BORGES, M.; MICHEREFF, M. F. F.; MAGALHÃES, D. M.; LAUMANN, R. A. Semiochemicals from plants and insects on the foraging behavior of Platygastridae egg parasitoids. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 5, p. 454-464, May 2016. DOI: 10.1590/S0100-204X2016000500005.

- BLASSIOLI-MORAES, M. C.; LAUMANN, R. A.; OLIVEIRA, M. W. M.; WOODCOCK, C. M.; MAYON, P.; HOOPER, A.; PICKETT, J. A.; BIRKETT, M. A.; BORGES M. Sex pheromone communication in two sympatric neotropical stink bug species *Chinavia ubica* and *Chinavia impicticornis*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 38, p. 836-845, 2012. DOI: 10.1007/s10886-012-0142-6.
- BLUM, M. S. Chemical releasers of social behavior. VIII. Citral in the mandibular gland secretion of *Lestrimelitta limao* (Hymenoptera: Apoidea: Melittidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 59, n. 5, p. 962-64, Sept. 1966. DOI: 10.1093/aesa/59.5.962.
- BORGES, M.; BLASSIOLI-MORAES, M. C. The semiochemistry of Pentatomidae. In: COKL, A.; BORGES, M. (Org.). **Stink bugs: biorational control based on communication processes**. Boca Raton: CRC Press, 2017. DOI: 10.1201/9781315120713-6.
- BORGES, M.; COLAZZA, S.; RAMIREZ-LUCAS, P.; CHAUHAN, K. R.; MORAES, M. C. B.; ALDRICH, J. R. Kairomonal effect of walking traces from *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae) on two strains of *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae). **Physiological Entomology**, v. 28, n. 4, p. 349-355, Dec. 2003. DOI: 10.1111/j.1365-3032.2003.00350.x.
- BORGES, M.; COSTA, M. L. M.; SUJII, E. R.; CAVALCANTI, M. das G.; REDÍGOLO, G. F.; RESCK, I. S.; VILELA, E. F. Semiochemical and physical stimuli involved in host recognition by *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae) toward *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae). **Physiological Entomology**, v. 24, n. 2, p. 227-233, 1999a. DOI: 10.1046/j.1365-3032.1999.00136.x.
- BORGES, M.; LEAL, S. C. M.; TIGANO-MILANI, M. S.; VALADARES, M. C. C. Efeito do feromônio de alarme do percevejo verde, *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae), sobre o fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 22, p. 505-512, 1993.
- BORGES, M.; MICHEREFF, M. F. F.; BLASSIOLI-MORAES, M. C.; MAGALHÃES, D. M.; HASSEMER, M. J.; LAUMANN, R. A.; BIRKETT, M. A. **Metodologias para o estudo da defesa de memória (Priming) em plantas frente a estresse biótico**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2017. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Circular técnica, 91).
- BORGES, M.; MORAES, M. C. B.; PEIXOTO, M. F.; PIRES, C. S. S.; SUJII, E. R.; LAUMANN R. A. Monitoring the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) with pheromone-baited traps in soybean fields. **Journal of Applied Entomology**, v. 135, n. 1-2, p. 68-80, Feb. 2011. DOI: 10.1111/j.1439-0418.2010.01507.x.
- BORGES, M.; SCHMIDT, F. G. V.; SUJII, E. R.; MEDEIROS, M. A.; MORI, K.; ZARBIN, P. H. G.; FERREIRA, J. T. B. Field responses of stink bugs to the natural and synthetic pheromone of the neotropical brown stink bug, *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae). **Physiological Entomology**, v. 23, n. 3, p. 202-207, Sept. 1998. DOI: 10.1046/j.1365-3032.1998.233086.x.
- BORGES, M.; ZARBIN, P. H. G.; FERREIRA, J. T. B.; COSTA, M. L. M. da. Pheromone sharing: blends based on the same compounds for *Euschistus heros* and *Piezodorus guildinii*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 25, n. 3, p. 629-634, Mar. 1999b. DOI: 10.1023/A:1020914222769.
- BUTENANDT, A.; BECKMANN, R.; STAMM, D.; HECKER, E. Über den sexuallockstoff des Seidenspinners *Bombyx mori*. Reindarstellung und konstitution. **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 14b, p. 283-284, 1959.
- BYERS, K. J. R. P.; BRADSHAW, H. D.; RIFFELL, J. A. Three floral volatiles contribute to differential pollinator attraction in monkeyflowers (*Mimulus*). **Journal of Experimental Botany**, v. 217, n. 4, p. 614-623, 2014. DOI: 10.1242/jeb.092213.
- CHOE, A.; CHUMAN, T.; REUSS, S. H. von; DOSSEY, A. T.; YIM, J. J.; AJREDINI, R.; KOLAWA, A. A.; KAPLAN, F.; ALBORN, H. T.; TEAL, P. E. A.; SCHROEDER, F. C.; STERNBERG, P. W.; EDISON, A. S. Sex-specific mating pheromones in the nematode *Panagrellus redivivus*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 51, p. 20949-20954, Dec. 2012. DOI: 10.1073/pnas.1218302109.

- COPPIN, E.; RENTY, C. de; DEBUCHY, R. The function of the coding sequences for the putative pheromone precursors in *Podospora anserina* is restricted to fertilization. **Eukaryotic Cell**, v. 4, p. 407-420, 2005. DOI: 10.1128/EC.4.2.407-420.2005.
- COSTA, M. L. M.; BORGES, M.; VILELA, E. F.; MARCO JR, P. de; LIMA, E. R. Effect of stereoisomers of the main component of the sex pheromone of *Euschistus heros* (F.) (Heteroptera: Pentatomidae) in the attractiveness of female. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, n. 3, p. 413-422, Sept. 2000. DOI: 10.1590/S0301-80592000000300004.
- CRUZ-LÓPEZ, L.; MALO, E. A.; ROJAS, J. C.; MORGAN, E. D. Chemical ecology of triatomine bugs: vectors of Chagas disease. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 15, n. 4, p. 351-357, Dec. 2001. DOI: 10.1046/j.0269-283x.2001.00340.x.
- D'ALESSANDRO, M.; ERB, M.; TON, J.; BRANDENBURG, A.; KARLEN, D.; ZOPFI, J.; TURLINGS, T. C. J. Volatiles produced by soil-borne endophytic bacteria increase plant pathogen resistance and affect tritrophic interactions. **Plant, Cell & Environment**, v. 37, n. 4, p. 813-826, Apr. 2014. DOI: 10.1111/pce.12220.
- D'ALESSANDRO, M.; TURLINGS, T. C. J. *In situ* modification of herbivore-induced plant odors: a novel approach to study the attractiveness of volatile organic compounds to parasitic wasps. **Chemical Senses**, v. 30, n. 9, p. 739-753, Nov. 2005. DOI: 10.1093/chemse/bji066.
- DAVEY, J. Mating pheromones of the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*: purification and structural characterization of M-factor and isolation and analysis of two genes encoding the pheromone. **The Embo Journal**, v. 11, n. 3, p. 951-960, Mar. 1992. DOI: 10.1002/j.1460-2075.1992.tb05134.x.
- DICKE, M.; SABELIS, M. W. Infochemical terminology: based on cost-benefit analysis rather than origin of compounds? **Functional Ecology**, v. 2, n. 2, p. 131-139, 1988. DOI: 10.2307/2389687.
- DUNNY, G. M.; BROWN, B. L.; CLEWELL, D. B. Induced cell aggregation and mating in *Streptococcus faecalis*: evidence for a bacterial sex pheromone. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 75, n. 7, p. 3479-3483, July 1978. DOI: 10.1073/pnas.75.7.3479.
- DUSSOURD, D. E.; HOYLE, A. M. Poisoned pluriines: toxicity of milkweed latex and cardenolides to some generalist caterpillars. **Chemoecology**, v. 10, n. 1, p. 11-16, Mar. 2000. DOI: 10.1007/PL00001810.
- EBERHARD, A.; BURLINGAME, A. L.; EBERHARD, C.; KENYON, G. L.; NEALSON, K. H.; OPPENHEIMER, N. J. Structural identification of autoinducer of *Photobacterium fischeri* luciferase. **Biochemistry**, v. 20, n. 9, p. 2444-2449, Apr. 1981. DOI: 10.1021/bi00512a013.
- ELLER, F. J.; BARTELT, R. J.; SHASHA, B. S.; SCHUSTER, D. J.; RILEY, D. G.; STANSLY, P. A.; MUELLER, T. F.; SHULER, K. D.; JOHNSON, B.; DAVIS, J. H.; SUTHERLAND, C. A. Aggregation pheromone for the pepper weevil, *Anthonomus eugenii* cano (Coleoptera: Curculionidae): identification and field activity. **Journal of Chemical Ecology**, v. 20, n. 7, p. 1537-1555, July 1994. DOI: 10.1007/BF02059879.
- ELNAIEM, D.-E. A.; WARD, R. D. Response of the sandfly *Lutzomyia longipalpis* to an oviposition pheromone associated with conspecific eggs. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 5, n. 1, p. 87-91, Jan. 1991. DOI: 10.1111/j.1365-2915.1991.tb00525.x.
- ERB, M.; VEYRAT, N.; ROBERT C. A. M.; XU, H.; FREY, M.; TON, J.; TURLINGS, T. C. J. Indole is an essential herbivore-induced volatile priming signal in maize. **Nature Communications**, v. 6, article number 6273, p. 1-10, 2015. DOI: 10.1038/ncomms7273.
- FATOUROS, N. E.; HUIGENS, M. E. Phoresy in the field: natural occurrence of *Trichogramma* egg parasitoids on butterflies and moths. **BioControl**, v. 57, n. 4, p. 493-502, Aug. 2012. DOI: 10.1007/s10526-011-9427-x.

FEENY, P. P. Effect of oak leaf tannins on larval growth of the winter moth *Operophtera brumata*. **Journal of Insect Physiology**, v. 14, n. 6, p. 805-817, June 1968. DOI: 10.1016/0022-1910(68)90191-1.

GRAÇA, J. P. da; UEDA, T. E.; JANEGITZ, T.; VIEIRA, S. S.; SALVADOR, M. C.; OLIVEIRA, M. C. N. de; ZINGARETTI, S. M.; POWERS, S. J.; PICKETT, J. A.; BIRKETT, M. A.; HOFFMANN-CAMPO, C. B. The natural plant stress elicitor *cis*-jasmone causes cultivar-dependent reduction in growth of the stink bug *Euschistus heros* and associated changes in flavonoid concentrations in soybean, *Glycine max*. **Phytochemistry**, v. 131, p. 84-91, Nov. 2016. DOI: 10.1016/j.phytochem.2016.08.013.

HARARI, A. R.; ZAHAVI, T.; THIERY, D. Fitness cost of pheromone production in signaling female moths. **Evolution**, v. 65, n. 6, p. 1572-1582, June 2011. DOI: 10.1111/j.1558-5646.2011.01252.x.

HASSEMER, M. J.; SANT'ANA, J.; BORGES, M.; WITHALL, D.; PICKETT, J. A.; OLIVEIRA, M. W. M. de; LAUMANN, R. A.; BIRKETT, M. A.; BLASSIOLI-MORAES, M. C. Revisiting the male-produced aggregation pheromone of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera, Tenebrionidae): identification of a six-component pheromone from a Brazilian population. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, p. 6809-6818, 2016. DOI: 10.1021/acs.jafc.6b02235.

HASSEMER, M. J.; SANT'ANA, J.; OLIVEIRA, M. W. M. de; BORGES, M.; LAUMANN, R. A.; CAUMO, M.; BLASSIOLI-MORAES, M. C. Chemical composition of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) abdominal glands and the influence of 1,4-benzoquinones on its behavior. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n. 4, p. 2107-2116, Aug. 2015. DOI: 10.1093/jee/tov147.

HILKER, M.; SCHWACHTJE, J.; BAIER, M.; BALAZADEH, S.; BÄURLE, I.; GEISELHARDT, S.; HINCHA, D. K.; KUNZE, R.; MUELLER-ROEBER, B.; RILLIG, M. C.; ROLFF, J.; ROMEIS, T.; SCHMÜLLING, T.; STEPPUHN, A.; DONGEN, J. van; WHITCOMB, S. J.; WURST, S.; ZUTHER, E.; KOPKA, J. Priming and memory of stress response in organisms lacking a nervous system. **Biological Reviews** v. 91, n. 4, p. 1118-1133, Nov. 2016. DOI: 10.1111/brv.12215.

HILL, A. S.; ROELOFS, W. L. Sex pheromone of the saltmarsh caterpillar moth, *Estigmene acrea*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 7, n. 4, p. 655-668, July 1981. DOI: 10.1007/BF00990299.

HILTPOLD, I.; TOEPFER, S.; KUHLMANN, U.; TURLINGS, T. C. J. How maize root volatiles affect the efficacy of entomopathogenic nematodes in controlling the western corn rootworm? **Chemoecology**, v. 20, n. 2, p. 155-162, June 2010. DOI: 10.1007/s00049-009-0034-6.

INTERNATIONAL CENTRE OF INSECT PHYSIOLOGY AND ECOLOGY. **Stories of our success: positive outcomes from push-pull farming systems**. Pragati Offset, 2013. 44 p.

KAISSLING, K. E. Pheromone reception in insects: the example of silk moths. In: MUCIGNAT-CARETTA, C. (Ed.). **Neurobiology of chemical communication**. Boca Raton: CRC Press: Taylor & Francis, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK200991/>>. Acesso em: 17 set. 2019.

KHAN, Z.; AMUDAVI, D.; PICKETT, J. **Push-pull technology transforms small farms in Kenya**. 2008. Disponível em: <<http://www.push-pull.net/panna.pdf>>. Acesso em: 2 set. 2018.

LAURENCE, B. R.; PICKETT, J. A. An oviposition attractant pheromone in *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). **Bulletin of Entomology Research**, v. 75, n. 2, p. 283-290, June 1985. DOI: 10.1017/S0007485300014371.

LEONARD, D. E.; SAINI, R. K. Semiochemicals from anal exudate of larvae of tsetse flies *Glossina morsitans morsitans* Westwood and *G. morsitans centralis* Machado attract gravid females. **Journal of Chemical Ecology**, v. 19, n. 9, p. 2039-2046, Sept. 1993. DOI: 10.1007/BF00983806.

LEROY, P. D.; SABRI, A.; HEUSKIN S.; THONART, P.; LOGNAY, G.; VERHEGGEN, F. J.; FRANCIS, F.; BROSTAUX, Y.; FELTON, G. W.; HAUBRUGE, E. Microorganisms from aphid honeydew attract and enhance the efficacy of natural enemies. **Nature Communication**, v. 2, n. 348, June 2011. DOI: 10.1038/ncomms1347.

LIEPERT, C.; DETTNER, K. Role of cuticular hydrocarbons of aphid parasitoids in their relationship to aphid-attending ants. **Journal of Chemical Ecology**, v. 22, n. 4, p. 695-707, Apr. 1996.

DOI: 10.1007/BF02033579.

LISK & JONES CONSULTANT. **New opportunities in the application of semiochemicals in pest management**. Disponível em: <<https://www.swansea.ac.uk/.../Owen%20Jones%20Session%202>>.

Acesso em: 6 jun. 2017.

MAGALHÃES, D. M.; BORGES, M.; LAUMANN, R. A.; SUJII, E. R.; MAYOR, P.; CAULFIELD, J. C.; MIDEGA, C. A.; KHAN, Z. R.; PICKETT, J. A.; BIRKETT, M. A.; BLASSIOLI-MORAES, M. C. Semiochemicals from herbivory induced cotton plants enhance the foraging behaviour of the cotton boll weevil, *Anthonomus grandis*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 38, n. 12, p. 1528-1538, Dec. 2012. DOI: 10.1007/s10886-016-0691-1.

MAGALHÃES, D. M.; BORGES, M.; LAUMANN, R. A.; WOODCOCK, C. M.; PICKETT, J. A.; BIRKETT, M. A.; BLASSIOLI-MORAES, M. C. Influence of two acyclic homoterpenes (tetranorterpenes) on the foraging behaviour of *Anthonomus grandis* Boh. **Journal of Chemical Ecology**, v. 42, n. 2, p. 305-313, Apr. 2016. DOI: 10.1007/s10886-016-0691-1.

MAGALHÃES, D. M.; BORGES, M.; LAUMANN, R. A.; WOODCOCK, C. M.; WITHALL, D. M.; PICKETT, J. A.; BIRKETT, M. A.; BLASSIOLI-MORAES, M. C. Identification of volatile compounds involved in host location by *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae). **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 6, n. 98, July 2018. DOI: 10.3389/fevo.2018.00098.

MANOSALVA, P.; MANOHAR, M.; VON REUSS S. H.; CHEN S.; KOCH, A.; KAPLAN, F.; CHOE, A.; MICIKAS, R. J.; WANG, X.; KOGEL, K. H.; STERNBERG, P. W.; WILLIAMSON, V. M.; SCHROEDER, F. C.; KLESSIG, D. F. Conserved nematode signalling molecules elicit plant defenses and pathogen resistance. **Nature Communications**, v. 6, article number 7795, 2015. DOI: 10.1038/ncomms8795, 2015.

DOI: 10.1038/ncomms8795.

MCBRIEN, H. L.; MILLAR, J. G.; GOTTLIEB, L.; CHEN, X.; RICE, R. E. Male-produced sex attractant pheromone of the green stink bug, *Acrosternum hilare* (Say). **Journal of Chemical Ecology**, v. 27, n. 9, p. 1821-1839, Sept. 2001. DOI: 10.1023/A:1020513218454.

MCBRIEN, H. L.; MILLAR, J. G.; RICE, R. E.; MCELFFRESH, J. S.; CULLEN, E.; ZALOM, F. G. Sex attractant pheromone of the red-shouldered stink bug *Thyanta pallidovirens*: a pheromone blend with multiple redundant components. **Journal of Chemical Ecology**, v. 28, n. 9, p. 1797-1818, Sept. 2002. DOI: 10.1023/A:1020513218454.

MICHAELIS, S.; POWERS, S. Biogenesis of yeast mating pheromone a-factor and ras proteins. In: UCLA SYMPOSIA ON MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY, 1998, Utah. **Proceedings**...Utah: UCLA, 1988. v. 76, p. 193-202.

MICHEREFF, M. F. F.; BORGES, M.; AQUINO, M. F. S.; LAUMANN, R. A.; GOMES, A. C. M. M.; BLASSIOLI-MORAES, M. C. The influence of volatile semiochemicals from stink bug eggs and oviposition-damaged plants on the foraging behaviour of the egg parasitoid *Telenomus podisi*. **Bulletin of Entomological Research**, v. 106, n. 5, p. 663-671, Oct. 2016. DOI: 10.1017/S0007485316000419.

MICHEREFF, M. F. F.; BORGES, M.; LAUMANN, R. A.; DANIEL, D.; DO LAGO, C. L.; BLASSIOLI-MORAES, M. C. The influence of resistant soybean cultivars on the biological development of *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae). **Journal of Plant Interactions**, v. 14, n. 1, p. 544-551, 2019. DOI: 10.1080/17429145.2019.1662498.

MICHEREFF, M. F. F.; LAUMANN, R. A.; BORGES, M.; MICHEREFF FILHO, M.; DINIZ, I. R.; FARIAS NETO, A. L.; BLASSIOLI MORAES, M. C. Volatiles mediating plant-herbivory-natural enemy interaction in resistant and susceptible soybean cultivars. **Journal of Chemical Ecology**, v. 37, n. 3, p. 273-285, Mar. 2011. DOI: 10.1007/s10886-011-9917-4.

MICHEREFF, M. F. F.; BORGES, M.; REZENDE I. D.; LAUMANN, R. A.; BLASSIOLI-MORAES, M. C. Influence of volatile compounds from herbivore-damaged soybean plants on searching behavior of the egg

parasitoid. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 147, p. 9-17, Mar. 2013. DOI: 10.1111/eea.12043.

MORAES, M. C. B.; MILLAR, J. G.; LAUMANN, R. A.; SUJII, E. R.; PIRES, C. S. S.; BORGES, M. Sex attractant pheromone from the neotropical red-shouldered stink bug, *Thyanta perditor* (F.). **Journal of Chemical Ecology**, v. 31, n. 6, p. 1415-1427, July 2005. DOI: 10.1007/s10886-005-5294-1.

MORAES, M. C. B.; PAREJA, M.; LAUMANN, R. A.; BORGES, M. The chemical volatiles (semiochemicals) produced by neotropical stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae). **Neotropical Entomology**, v. 37, n. 5, p. 489-505, Sept./Oct. 2008. DOI: 10.1590/S1519-566X2008000500001.

MORI, K.; MURATA, M. Synthesis of all eight stereoisomers of methyl 2,6,10 trimethyltridecanoate, the male-produced pheromone of the stink bugs, *Euschistus heros* and *E. obscurus*. **Liebigs Annalen der Chemie**, v. 1994, n. 12, p. 1153-1160, Nov. 1994. DOI: 10.1002/jlac.199419941203.

O'SHEA, S. F.; CHAURE, P. T.; HALSALL, J. R.; OLESNICKY, N. S.; LEIBBRANDT, A.; CONNERTON, I. F.; CASSELTON, L. A. A large pheromone and receptor gene complex determines multiple B mating type specificities in *Coprinus cinereus*. **Genetics**, v. 148, n. 3, p. 1081-1090, Mar. 1998.

OEHLSCHLAGER, A. C.; MCDONALD, R. S.; CHINCHILLA, C. M.; PATSCHKE, S. N. Influence of a pheromone-based mass-trapping system on the distribution of *Rhynchophorus palmarum* (Coleoptera: Curculionidae) in oil palm. **Environmental Entomology**, v. 24, n. 5, p. 1005-1012, Oct. 1995. DOI: 10.1093/ee/24.5.1005.

OEHLSCHLAGER, A. C.; PIERCE, H. D.; MORGAN, B.; WIMALARATNE, P. D. C.; SLESSOR, K. N.; KING, G. G. S.; GRIES, G.; GRIES, R.; BORDEN, J. H.; JIRON, L. F.; CHINCHILLA, C. M.; MEXZAN, R. G. Chirality and field activity of rhynchophorol, the aggregation pheromone of the American palm weevil. **Naturwissenschaften**, v. 79, n. 3, p. 134-135, Mar. 1992. DOI: 10.1007/BF01131543.

PAOLETTI, M.; SEYMOUR, F. A.; ALCOCER, M. J. C.; KAUR, N.; CALVO, A. M.; ARCHER, D. B.; DYER, P. S. Mating type and the genetic basis of self-fertility in the model fungus *Aspergillus nidulans*. **Current Biology**, v. 17, n. 16, p. 1384-1389, Aug. 2007. DOI: 10.1016/j.cub.2007.07.012.

PAVELA, R. Antifeedant and larvicidal effects of some phenolic components of essential oils lasp lines of introduction against *Spodoptera littoralis* (Boisd.). **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 14, n. 3, p. 266-273, 2011. DOI: 10.1080/0972060X.2011.10643932.

PEÑAFLORES, M. F. G. V.; ERB, M.; MIRANDA, L. A.; WERNEBURG, A. G.; BENTO, J. M. S. Herbivore-induced plant volatiles can serve as host location cues for a generalist and a specialist egg parasitoid. **Journal of Chemical Ecology**, v. 37, n. 13, p. 1304-1313, Dec. 2011. DOI: 10.1007/s10886-011-0047-9.

PRODUCTS AND TRENDS. **Semiochemicals, maybe the fastest growing segment of the biopesticides market**. 2017. Disponível em: <<http://dunhamtrimmer.com/wp-content/uploads/2017/07/Prod-Trends-2.pdf>>. Acesso em: 2 set. 2018.

RAUDASKOSKI, M.; KOTHE, E. Basidiomycete mating type genes and pheromone signaling. **Eukaryotic Cell**, v. 9, p. 847-859, 2010. DOI: 10.1128/EC.00319-09.

SCHIESTL, F. P.; STEINEBRUNNER, F.; SCHULZ, C.; REUB, S. von; FRANCKE, W.; WEYMUTH, C.; LEUCHTMANN, A. Evolution of 'pollinator' – attracting signals in fungi. **Biology Letters**, v. 2, n. 3, p. 401-404, Apr. 2006. DOI: 10.1098/rsbl.2006.0479.

SEYBOLD, S. J.; TITTIGER, C. Biology of *de novo* isoprenoid pheromone production in the Scolytidae. **Annual Review of Entomology**, v. 48, p. 425-453, 2003. DOI: 10.1146/annurev.ento.48.091801.112645.

SHARIFI, R.; RYU, C. M. Are bacterial volatile compounds poisonous odors to a fungal pathogen *Botrytis cinerea*, alarm signals to *Arabidopsis* seedlings for eliciting induced resistance, or both? **Frontiers in Microbiology**, v. 7, article 196, Feb. 2016. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00196.

- SHEN, W.-C.; BOBROWICZ, P.; EBBOLE, D. J. Isolation of pheromone precursor genes of *Magnaporthe grisea*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 27, n. 2-3, p. 253-263, July 1999. DOI: 10.1006/fgbi.1999.1151.
- SINGH, H. P.; BATISH, D. R.; KAUR, S.; KOHLI, R. K.; ARORA, K. Phytotoxicity of the volatile monoterpene citronellal against some weeds. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 61, p. 334-340, 2006. DOI: 10.1515/znc-2006-5-606.
- SPITELLER, P. Chemical ecology of fungi. **Natural Product Reports**, v. 32, n. 7, p. 971-993, 2015. DOI: 10.1039/C4NP00166D.
- SRINIVASAN, J.; KAPLAN, F.; AJREDINI, R.; ZACHARIAH, C.; ALBORN, H. T.; TEAL, P. E. A.; MALIK, R. U.; EDISON, A. S.; STERNBERG, P. W.; SCHROEDER, F. C. A blend of small molecules regulates both mating and development in *Caenorhabditis elegans*. **Nature**, v. 454, p. 1115-1118, 2008. DOI: 10.1038/nature07168.
- SRINIVASAN, J.; REUSS, S. H. von; BOSE, N.; ZASLAVER, A.; MAHANTI, P.; HO, M. C.; O'DOHERTY, O. G.; EDISON, A. S.; STERNBERG, P. W.; SCHROEDER, F. C. A modular library of small molecule signals regulates social behaviors in *Caenorhabditis elegans*. **PLOS ONE**, v. 10, p. 1-14, 2012. DOI: 10.1371/journal.pbio.1001237.
- TOGNON, R.; SANT'ANA, J.; ZHANG, Q.; MILLAR, J. G.; ALDRICH, J. R.; ZALOM, F. G. Volatiles mediating parasitism of *Euschistus conspersus* and *Halyomorpha halys* eggs by *Telenomus podisi* and *Trissolcus erugatus*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 42, n. 10, p. 1016-1027, Oct. 2016. DOI: 10.1007/s10886-016-0754-3.
- TUMLINSON, J. H.; GUELDNER, R. C.; HARDEE, D. D.; THOMPSON, A. C.; HEDIN, P. A.; MINYARD, J. P. Identification and synthesis of the four compounds comprising the boll weevil sex attractant. **Journal of Organic Chemistry**, v. 36, p. 2616-2621, 1971. DOI: 10.1021/jo00817a012.
- VAILLANCOURT, L. J.; RAUDASKOSKI, M.; SPECHT, C. A.; RAPER, C. A. Multiple genes encoding pheromones and a pheromone receptor define the B beta 1 mating-type specificity in *Schizophyllum commune*. **Genetics**, v. 146, n. 2, p. 541-551, June 1997. DOI: 10.1007/s10526-014-9592-9.
- VIEIRA, C. R.; BLASSIOLI-MORAES, M. C.; BORGES, M.; PIRES, C. S. S.; SUJII, E. R.; LAUMANN, R. A. Field evaluation of (*E*)-2-hexenal efficacy for behavioral manipulation of egg parasitoids in soybean. **BioControl**, v. 59, n. 5, p. 525-537, Oct. 2014. DOI: 10.1007/s10526-014-9592-9.
- WITZGALL, P.; KIRSCH, P.; CORK, A. Sex pheromones and their impact on pest management. **Journal of Chemical Ecology**, v. 36, n. 1, p. 80-100, Jan. 2010. DOI: 10.1007/s10886-009-9737-y.
- XIE, X.; ZHANG, H.; PARE, P. Sustained growth promotion in *Arabidopsis* with long-term exposure to the beneficial soil bacterium *Bacillus subtilis* (GB03). **Plant Signaling & Behavior**, v. 4, n. 10, p. 948-953, 2009. DOI: 10.4161/psb.4.10.9709.
- XU, J.; HUIGENS, M. E.; ORR, D.; GROOT, A. T. Differential response of *Trichogramma* wasps to extreme sex pheromone types of the noctuid moth *Heliothis virescens*. **Ecological Entomology**, v. 39, n. 5, p. 627-636, July 2014. DOI: 10.1111/een.12142.
- ZHANG, F. P.; YANG, Q. Y.; ZHANG, S. B. Dual effect of phenolic nectar on three floral visitors of *Elsholtzia rugulosa* (Lamiaceae) in SW China. **PLOS ONE**, 2016. DOI: 10.1371/journal.pone.0154381.
- ZHANG, X.-F.; YANG, S.-L.; HAN, Y.-Y.; ZHAO, L.; LU, G.-L.; XIA, T.; GAO, L.-P. Qualitative and quantitative analysis of triterpene saponins from tea seed pomace (*Camellia oleifera* Abel) and their activities against bacteria and fungi. **Molecules**, v. 19, n. 6, p. 7568-7580, 2014. DOI: 10.3390/molecules19067568.
- ZHANG, Y. L.; MAREPALLI, H. R.; LU, H.-F.; BECKER, J. M.; NAIDER, F. Synthesis, biological activity, and conformational analysis of peptidomimetic analogues of the *Saccharomyces cerevisiae* alpha-factor tridecapeptide. **Biochemistry**, v. 37, p. 12465-12476, Aug. 1998. DOI: 10.1021/bi980787u.

PARTE 5

ASPECTOS LEGAIS, PERSPECTIVAS E MERCADO

CAPÍTULO 14

Regulamentação da pesquisa e do registro de produtos de controle biológico

Daniela Macêdo Jorge
Fernanda Álvares da Silva
Izabela Mascarenhas Matosinhos de Sousa

O uso de seres vivos e substâncias naturais, ou seus derivados, para o controle de populações de outros seres vivos considerados nocivos ocorre nas práticas agrícolas há séculos (Viera et al., 2003). Por meio da observação de processos naturais de contenção de uma dada população de seres vivos, o homem foi aprendendo a manejar essas populações ou recursos naturais em benefício próprio. Esse conhecimento passou a ser utilizado para controlar espécies que representavam danos aos sistemas agrícolas. Inicialmente, os programas de controle biológico eram conduzidos por órgãos agropecuários ou de pesquisa como a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) (Jorge; Souza, 2017).

O uso de seres vivos e substâncias naturais, que se contrapõe ao modelo agroquímico de manejo da agricultura convencional, tem sido chamado de controle alternativo de pragas e doenças. Apesar de o controle alternativo de pragas basear-se na utilização de processos e recursos de ocorrência natural, a apropriação dessas tecnologias e sua utilização no Brasil como produtos comercializados para controle de pragas e doenças agrícolas acabou por inseri-las no universo dos produtos regulados pela lei de agrotóxicos, componentes e afins.

A atuação do Estado no controle das atividades comerciais foi consolidada pela necessidade de um agente regulador/mediador da relação entre fornecedor de produtos ou serviços e o consumidor desse bem. Existe ainda uma interferência

nas atividades comerciais e econômicas além dessa relação direta de consumo. O uso e o comércio de tecnologias agrícolas implicam diretamente na saúde da população e no meio ambiente das regiões de produção; indiretamente na população de consumidores dos produtos agrícolas; na economia local e nacional da cadeia produtiva; e, por fim, nas relações sociais resultantes dessas atividades que, de forma direta, repercutem e se traduzem em efeitos sobre a três primeiras implicações citadas.

Especificamente sobre o uso e comércio de agrotóxicos, no qual se enquadram as tecnologias de controle biológico, há um impacto ambiental, agrônômico e para a saúde humana. A eficiência de uma técnica ou produto tem efeito direto na sustentabilidade e praticabilidade agrícola e, portanto, justifica-se a atuação do Estado para a verificar a eficácia dos produtos comercializados. Assim, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) atua na regulação e registro de agrotóxicos. O fato de o uso de agrotóxicos ocorrer em grande escala e sua aplicação ser diretamente sobre o ambiente afeta todos os seres vivos expostos a essas substâncias e agentes de controle, entre eles o ser humano. Assim, justifica-se a atuação regulatória dos órgãos do meio ambiente e de saúde para que haja uma avaliação do impacto ambiental e para a saúde humana, representados, respectivamente, pelo Instituto Brasileiro de Meio Ambiente (Ibama) e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa).

REGULAÇÃO DE AGROTÓXICOS E AVANÇOS NO REGISTRO DE PRODUTOS BIOLÓGICOS

O enquadramento dos produtos biológicos como agrotóxicos se baseia no fato de o conceito de agrotóxico ser abrangente. Segundo a Lei nº 7.802/1989, agrotóxicos são:

[...] os produtos e os agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos. (Brasil, 1989).

Esse conceito se aplica a vários produtos de origem biológica, utilizados com a finalidade de controlar seres vivos considerados nocivos, ou seja, pragas agrícolas. Assim, produtos utilizados para o controle alternativo de pragas que se enquadrem no conceito legal de agrotóxicos, componentes e afins devem obrigatoriamente

ser registrados quando forem comercializados, pois a legislação brasileira determina que:

Os agrotóxicos, seus componentes e afins só poderão ser produzidos, manipulados, importados, exportados, comercializados e utilizados no território nacional se previamente registrados no órgão federal competente [...]. (Brasil, 2002a).

Essa norma determina também que a avaliação do pleito de registro será feita pelos órgãos federais responsáveis pelos setores de agricultura, saúde e meio ambiente (Mapa, Anvisa e Ibama). A Anvisa, como órgão da saúde regulador de agrotóxicos e afins, cumpre o papel de avaliar e regular esses produtos com foco nos possíveis danos advindos da sua utilização à saúde humana, seja no ambiente agrícola, seja sobre qualquer outra forma de exposição a esses produtos. O Ibama faz a avaliação do impacto ambiental, e o Mapa da eficiência da aplicação do produto no campo. Esses três órgãos responsáveis pela regulação de agrotóxicos e afins têm demonstrado considerar os produtos de origem biológica como prioritários e de interesse para a agricultura, especialmente para a agricultura orgânica. Sob essa ótica, esses órgãos vêm trabalhando para aprimorar a regulação desses produtos, dando-lhes o tratamento devidamente diferenciado. Alguns dos aspectos da diferenciação da regulação de produtos de origem biológica já vêm sendo estabelecidos desde a publicação do Decreto nº 4.074/2002 (Brasil, 2002a), que regulamenta a Lei dos Agrotóxicos. Nesse decreto, foi estabelecido que produtos de baixa toxicidade e periculosidade tenham a avaliação dos seus pleitos de registro priorizada.

A partir de 2006, publicaram-se três normativas regulamentando algumas categorias de produtos de origem biológica: semioquímicos, agentes biológicos de controle e agentes microbiológicos de controle. O conjunto de normativas que regulamentam essas três categorias de produtos biológicos utilizados no controle biológico no Brasil são:

- Instrução Normativa Conjunta (INC) Mapa/Ibama/Anvisa nº 1/2006 – Estabelece procedimentos a serem adotados para efeito de registro de produtos semioquímicos que se caracterizem como produtos técnicos, agrotóxicos ou afins (Brasil, 2006a).
- Instrução Normativa Conjunta Mapa/Ibama/Anvisa nº 2/2006 – Estabelece procedimentos a serem adotados para efeito de registro de agentes biológicos de controle (Brasil, 2006b).
- Instrução Normativa Conjunta Mapa/Ibama/Anvisa nº 3/2006 (cujo anexo foi alterado pela INC nº 03/2014) – Estabelece procedimentos a serem adotados para efeito de registro de agentes microbiológicos, empregados no controle

de uma população, ou de atividades biológicas de outro organismo vivo considerado nocivo (Brasil, 2006b).

Essas três normas estabeleceram protocolos diferenciados para cada uma dessas categorias e inauguraram dois grandes avanços na simplificação do registro desses produtos. O primeiro é ter-se uma avaliação toxicológica e de periculosidade ambiental faseada, em que só são solicitados certos tipos de estudos laboratoriais em caso de indícios de ações danosas na primeira fase da avaliação. O segundo é a dispensa de vários tipos de estudos laboratoriais, exigidos para o registro de agrotóxicos químicos convencionais, de acordo com a natureza da substância ou a forma de utilização pretendida.

A categoria de semioquímicos já é bem incorporada nas práticas de cultivo convencionais para monitoramento dos níveis populacionais de praga. A INC 1/2006 (Brasil, 2006a) é aplicada à categoria de produtos à base de substâncias químicas que exercem na natureza um papel de comunicação entre os seres vivos, sejam eles pertencentes à mesma espécie (feromônios) ou a espécies diferentes (aleloquímicos). No Brasil a produção de semioquímicos é pequena e os produtos registrados são formulados geralmente com ingredientes ativos importados.

Os agentes biológicos de controle são chamados de macrorganismos e englobam os insetos, ácaros, nematoides e todo tipo de seres que desempenham um papel de parasita, predador ou competidor em relação à espécie que se pretende controlar. Por se tratar de um organismo adaptado para viver dentro do mesmo ecossistema em que o alvo biológico, eles são conhecidos como inimigos naturais. A manutenção ou liberação desses organismos traz benefícios para o produtor rural no trato da cultura. O manejo deles pode ser feito, e comumente o é, nas práticas agroecológicas. No entanto, às vezes somente a disponibilidade natural desses organismos benéficos não é suficiente e o produtor recorre à criação ou compra de indivíduos com essa finalidade. Assim, quando comercializados, esses inimigos naturais devem ser registrados. Um dos maiores exemplos de agentes biológicos de controle é a *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae). A cotésia é uma vespa que coloca seus ovos no interior das lagartas, tais como a *Diatrea sacharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), popularmente conhecida como a broca-da-cana. Ao emergirem no interior da lagarta, as larvas de cotésia a matam. Um manejo muito comum e vantajoso é utilizar, em conjunto com a *C. flavipes*, parasitoides de ovos do gênero *Trichogramma*. Esse também é uma vespa, de tamanho bem menor que a cotésia (1 mm de comprimento), que parasita os ovos da lagarta. Assim, o produtor consegue controlar a lagarta em dois estágios diferentes do seu ciclo de vida: lagarta e ovo.

A última categoria de produtos de origem biológica que já se encontra regulamentada é a dos agentes microbiológicos de controle. A INC nº 3/2006 os define como:

[...] microrganismos vivos de ocorrência natural, bem como aqueles resultantes de técnicas que impliquem na introdução natural de material hereditário, excetuando-se os organismos cujo material genético (ADN/ARN) tenha sido modificado por qualquer técnica de engenharia genética (OGM). (Brasil, 2006c).

Os produtos microbiológicos em geral têm ação infectiva sobre o alvo biológico. Um dos exemplos utilizados há anos no campo é a aplicação do fungo *Metharizium anisopliae* para controle de lagarta. No entanto, alguns produtos biológicos são feitos à base de microrganismos que intoxicam o alvo biológico ou que agem como licitadores de defesa da planta em uma relação muito sofisticada de mediação entre a planta e seu patógeno, como é o caso dos fungos do gênero *Trichoderma*.

Quatro anos após a publicação das normas de produtos de origem biológica, houve outro avanço regulatório significativo. Foram publicados três atos normativos que possibilitaram o registro de produtos das categorias semioquímicos, agentes biológicos de controle (inimigos naturais) e microrganismos, por alvo biológico (Brasil, 2010, 2011, 2014). Isso significa que os produtos comerciais à base desses ativos podem ser utilizados em qualquer tipo de cultura na qual ocorra o alvo biológico para o qual o produto tenha sido registrado. Com isso, houve um considerável aumento do espectro de produtos registrados autorizados para uso em certas culturas para as quais poucos tipos de produtos eram registrados. Ademais, esses atos orientam a retirada da caveira presente em rótulo e bula para essas três categorias. Anteriormente, os modelos de rótulos e bulas aprovados continham o símbolo das duas tibias e da caveira com a expressão: cuidado veneno.

Essas ações promoveram uma diferenciação desses produtos no mercado, o que serve como incentivo ao uso desses em detrimento aos químicos convencionais. Além disso, essas novidades regulatórias contribuíram para que esses produtos fossem vislumbrados para o uso em sistemas orgânicos e agroecológicos de produção. Insumos a serem utilizados nesses sistemas não podem ter restrição de uso em uma dada cultura, visto a estratégia de diversificação e mescla de culturas adotada. Também, a presença de um dizer denominando o produto como veneno seria contraditória aos princípios da agroecologia e produção orgânica. Concomitantemente ao desenvolvimento e à aplicação da regulação da produção da agricultura orgânica, as certificadoras passaram a exigir que os produtos comerciais utilizados nos sistemas orgânicos de produção fossem registrados. Assim, a regularização e a expansão dos produtos biológicos se tornaram uma demanda para os sistemas orgânicos de produção.

Assim, para atender a essa demanda, foi regulamentada, no Brasil, uma via de registro simplificado para produtos permitidos nesse sistema de produção denominados de produtos fitossanitários com uso aprovado para a agricultura orgânica. Essa via foi iniciada em 2011 e muito já contribuiu para o expressivo aumento do número de produtos biológicos registrados nos últimos anos.

Por esse meio, a análise da toxicidade humana, eficiência agrônômica e potencial de periculosidade ambiental do produto é feita em conjunto pelos órgãos competentes, que publicam uma especificação de referência com garantias mínimas que o produto deve seguir para poder ser registrado. As especificações de referência trazem já definidos o ingrediente ativo ou o agente biológico de controle, a classe de uso, o tipo de formulação (quando for o caso), a indicação de uso, a forma de aplicação, o alvo biológico para o qual a eficiência agrônômica já tenha sido comprovada naquelas condições de uso, entre outras informações. O trâmite de registro dentro dos órgãos é muito mais rápido, tendo esses processos tramitação própria e prioritária previstas no Decreto nº 6.913/2009 (Brasil, 2009). Por esse meio, a análise é mais célere que o pleito de registro submetido pelo método convencional, visto que a maioria dos dados e das informações exigidos já foi avaliada.

ETAPAS PARA A REGULAÇÃO DOS PRODUTOS BIOLÓGICOS

O desenvolvimento de um produto biológico envolve etapas que são reguladas pelas legislações da agricultura, do ambiente e da saúde e envolvem questões que vão além dos requisitos para registro, a exemplo das exigências relacionadas ao acesso ao patrimônio genético. Essas etapas são a coleta do material biológico a ser pesquisado, a identificação, a experimentação no laboratório, o desenvolvimento de formulação (quando for o caso), a experimentação no campo do produto final ou do agente biológico e o registro do produto comercial.

Quando o produto, agente ou tecnologia pesquisada apresentam características promissoras para a comercialização, antes do registro devem ser feitos estudos da avaliação dos impactos para a saúde e para o ambiente. Cada uma dessas etapas pode se relacionar com um conjunto de normativas que competem a um ou mais órgãos de regulação, em geral publicadas em forma de INC. A seguir tratar-se-á dessas exigências regulatórias de forma geral, pontuando os principais aspectos a serem observados ainda na etapa da pesquisa para que as pesquisas desenvolvidas nessa área tenham mais sucesso e probabilidade de se reverterem em um produto comercial legalizado.

Coleta de material biológico

Com a abundância e diversidade dos recursos genéticos brasileiros e com a entrada em vigor da Convenção sobre Diversidade Biológica (CDB), por meio do Decreto Legislativo nº 2 de 1994 (Brasil, 1994), foi necessário modernizar e harmonizar os marcos regulatórios vigentes. Dessa forma, com a ampliação da importância da conservação, uso sustentável e repartição de benefícios, o Brasil passou a ter a obrigação de internalizar os princípios da CDB juntamente como o disposto na Constituição Federal de 1988 (Brasil, 1988). No que se refere ao controle biológico, a primeira regulamentação relevante foi a da coleta de material biológico.

O Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) é o órgão oficial regulador da coleta de animais no território nacional e da coleta de plantas e microrganismos em unidades de conservação federal e cavernas, criado pela Lei nº 11.516, de 28 de agosto de 2007 (Brasil, 2007). O órgão emite autorizações para coleta pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (Sisbio), um sistema de atendimento à distância que permite a pesquisadores solicitarem autorizações para a coleta de material biológico e para a realização de pesquisa em unidades de conservação federal e cavernas. Os pesquisadores devem solicitar pelo Sisbio autorização para coleta de material biológico (microrganismos/substrato, insetos e plantas) para o desenvolvimento de produtos biológicos, obedecendo o disposto na Instrução Normativa nº 03/2014 (Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, 2015). Em outras unidades de conservação estaduais e municipais, deverá ser observada a legislação vigente e os procedimentos específicos de cada uma delas. A partir da implementação do Sisbio, a solicitação passou a ser eletrônica, o que reduziu o tempo de tramitação e a emissão da autorização.

Para a coleta de fauna, sempre será necessária autorização, pois, apesar de ela não figurar entre o rol de bens da União, a Constituição Federal de 1988 (Brasil, 1988) estabelece, no seu Art. 225, § 1º, que incumbe ao poder público:

VII - proteger a fauna e a flora, vedadas, na forma da lei, as práticas que coloquem em risco sua função ecológica, provoquem a extinção de espécies ou submetam os animais à crueldade e tem proteção especial pela Lei nº 5.197, de 3 de janeiro de 1967.

Quando o microrganismo/substrato for coletado fora das áreas em que o ICMBio não é responsável pela gestão, por exemplo, em uma área privada, então não é necessária autorização de coleta. Para fins de resguardar eventual fiscalização no trajeto entre a área da coleta e o local de destino, seja uma universidade ou empresa/instituição pública ou privada, é possível realizar por meio do Sisbio o Registro Voluntário para coleta e transporte de material botânico, fúngico e microbiológico.

Outras formas de obtenção do material microbiológico para pesquisa e desenvolvimento de produtos se dá por meio da identificação de microrganismos potenciais em coleções das instituições públicas e/ou privadas, observadas as condições estabelecidas, mediante normas internas dessas instituições.

A coleta de material para fins de desenvolvimento de um agente microbiano de controle biológico tornou-se juridicamente mais segura considerando o conceito trazido na regulamentação da Lei nº 13.123/2015 (Brasil, 2015), por meio do Decreto nº 8.772/2016 (Brasil, 2016), em seu Art. 1º, qual seja:

Art. 1º Este Decreto regulamenta a Lei nº 13.123, de 20 de maio de 2015, que dispõe sobre o acesso ao patrimônio genético, sobre a proteção e o acesso ao conhecimento tradicional associado e sobre a repartição de benefícios para conservação e uso sustentável da biodiversidade.

§ 1º Considera-se parte do patrimônio genético existente no território nacional, para os efeitos deste Decreto, o microrganismo que tenha sido isolado a partir de substratos do território nacional, do mar territorial, da zona econômica exclusiva ou da plataforma continental.

§ 2º O microrganismo não será considerado patrimônio genético nacional quando o usuário, instado pela autoridade competente, comprovar:

I - que foi isolado a partir de substratos que não sejam do território nacional, do mar territorial, da zona econômica exclusiva ou da plataforma continental; e

II - a regularidade de sua importação.

Se o microrganismo de que trata a normativa for coletado em território nacional brasileiro, então, a depender do local onde será coletado, necessitará ou não de autorização específica do ICMBio.

Acesso ao patrimônio genético

Após vários anos de discussão e projetos de lei propostos, sem perspectiva de uma norma interna clara que trouxesse segurança jurídica para o uso dos recursos genéticos e aos conhecimentos tradicionais associados, foi aprovada uma Medida Provisória – MP nº 2.186-16/2001 (Brasil, 2001), com força de lei, que ficou vigente até novembro de 2015. A medida provisória, embora tenha concretizado uma norma legal para o tema, trouxe de imediato um problema de interpretação quanto ao conceito de coleta, já tradicionalmente estabelecido no País como a retirada do material do ambiente, seja ele animal, vegetal ou microbiano, a partir da sua condição *in situ* ou local de ocorrência. Foi o primeiro impacto da então lei de acesso ao patrimônio genético e aos conhecimentos tradicionais associados. Após sanadas as divergências, outras dúvidas surgiram, como o entendimento de que a coleta não estaria incluída no âmbito da MP, e que a retirada de material que já se encontrava em condição *ex situ*, desde que, em algum momento, tenha sido retirado da condição *in situ* e, por-

tanto, se equivaleria a coleta. Daí os materiais em coleções e bancos de germoplasma já estariam aptos a serem acessados para as mais variadas finalidades, sejam elas para uso comercial, ou não. Dentre as finalidades comerciais, o desenvolvimento de produtos para controle biológico estava estabelecido, isto é, a pesquisa e o desenvolvimento de produtos para fins de controle biológico são regulados pela legislação de acesso ao patrimônio genético.

Após quase 15 anos de aplicação da MP, em 2015 foi publicada a Lei nº 13.123, que trouxe um novo arcabouço regulatório cujos procedimentos são mais flexíveis, tanto para o cadastro de atividade que pode vir a culminar com o desenvolvimento de um produto de controle biológico, quanto para a exploração econômica e posterior registro de produtos nos órgãos Mapa, Ibama e Anvisa.

Após a entrada em vigor da Lei nº 13.123/2015 e do Decreto Regulamentador nº 8.772/2016, para desenvolver um produto a base de microrganismos, algumas etapas deverão ser obedecidas para evitar que, no momento do registro do produto e eventual exploração econômica, ocorra algum imprevisto por descumprimento das normas. Para quem desenvolve produtos, a sequência de etapas será: cadastro da atividade de pesquisa e/ou de desenvolvimento tecnológico; notificação do produto e exploração econômica e repartição de benefícios (quando aplicável, pois, em alguns casos, não haverá obrigação de repartir benefícios). Para o cumprimento dessas etapas, foi criado e implementado o Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), no âmbito do Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGen), órgão colegiado de caráter deliberativo, normativo, consultivo e recursal ligado ao Ministério do Meio Ambiente (MMA).

O SisGen é um sistema eletrônico criado como um instrumento para auxiliar o CGen na gestão do patrimônio genético e do conhecimento tradicional associado. O SisGen é mantido e operacionalizado pela Secretaria-Executiva do CGen, e apresenta interface que possibilita ao usuário (Brasil, 2018):

- Cadastrar acesso ao patrimônio genético ou ao conhecimento tradicional associado.
- Cadastrar o envio de amostra que contenha patrimônio genético para prestação de serviços no exterior.
- Cadastrar remessa de amostra de patrimônio genético.
- Notificar produto acabado ou material reprodutivo.
- Solicitar autorização de acesso ao patrimônio genético ou ao conhecimento tradicional associado e de remessa ao exterior.

- Solicitar credenciamento de instituições mantenedoras das coleções ex situ que contenham amostras de patrimônio genético.
- Obter comprovantes de cadastros, de remessa e de notificações.
- Obter certidões do procedimento administrativo de verificação.
- Solicitar atestados de regularidade de acesso.

Citam-se a seguir alguns conceitos importantes na Lei nº 13.123/2015 utilizados para o desenvolvimento de produtos (Brasil, 2015):

I - patrimônio genético – informação de origem genética de espécies vegetais, animais, microbianas ou espécies de outra natureza, incluindo substâncias oriundas do metabolismo destes seres vivos;

II - acesso ao patrimônio genético – pesquisa ou desenvolvimento tecnológico realizado sobre amostra de patrimônio genético;

III - pesquisa – atividade, experimental ou teórica, realizada sobre o patrimônio genético ou conhecimento tradicional associado, com o objetivo de produzir novos conhecimentos, por meio de um processo sistemático de construção do conhecimento que gera e testa hipóteses e teorias, descreve e interpreta os fundamentos de fenômenos e fatos observáveis;

IV - desenvolvimento tecnológico – trabalho sistemático sobre o patrimônio genético ou sobre o conhecimento tradicional associado, baseado nos procedimentos existentes, obtidos pela pesquisa ou pela experiência prática, realizado com o objetivo de desenvolver novos materiais, produtos ou dispositivos, aperfeiçoar ou desenvolver novos processos para exploração econômica;

V - cadastro de acesso ou remessa de patrimônio genético ou de conhecimento tradicional associado – instrumento declaratório obrigatório das atividades de acesso ou remessa de patrimônio genético ou de conhecimento tradicional associado;

VI - remessa – transferência de amostra de patrimônio genético para instituição localizada fora do País com a finalidade de acesso, na qual a responsabilidade sobre a amostra é transferida para a destinatária;

VII - autorização de acesso ou remessa – ato administrativo que permite, sob condições específicas, o acesso ao patrimônio genético ou ao conhecimento tradicional associado e a remessa de patrimônio genético;

VIII - usuário – pessoa natural ou jurídica que realiza acesso a patrimônio genético ou conhecimento tradicional associado ou explora economicamente produto acabado ou material reprodutivo oriundo de acesso ao patrimônio genético ou ao conhecimento tradicional associado;

IX - produto acabado – produto cuja natureza não requer nenhum tipo de processo produtivo adicional, oriundo de acesso ao patrimônio genético ou ao conhecimento tradicional associado, no qual o componente do patrimônio genético ou do conhecimento tradicional associado seja um dos elementos principais de agregação de valor ao produto, estando apto à utilização pelo consumidor final, seja esta pessoa natural ou jurídica;

X - produto intermediário – produto cuja natureza é a utilização em cadeia produtiva, que o agregará em seu processo produtivo, na condição de insumo, excipiente e matéria-prima, para o desenvolvimento de outro produto intermediário ou de produto acabado;

XI - elementos principais de agregação de valor ao produto – elementos cuja presença no produto acabado é determinante para a existência das características funcionais ou para a formação do apelo mercadológico;

XII - notificação de produto – instrumento declaratório que antecede o início da atividade de exploração econômica de produto acabado ou material reprodutivo oriundo de acesso ao patrimônio genético ou ao conhecimento tradicional associado, no qual o usuário declara o cumprimento dos requisitos desta Lei e indica a modalidade de repartição de benefícios, quando aplicável, a ser estabelecida no acordo de repartição de benefícios;

XIII - acordo de repartição de benefícios – instrumento jurídico que qualifica as partes, o objeto e as condições para repartição de benefícios;

XIV - termo de transferência de material – instrumento firmado entre remetente e destinatário para remessa ao exterior de uma ou mais amostras contendo patrimônio genético acessado ou disponível para acesso, que indica, quando for o caso, se houve acesso a conhecimento tradicional associado e que estabelece o compromisso de repartição de benefícios de acordo com as regras previstas nesta Lei;

XV - atividades agrícolas – atividades de produção, processamento e comercialização de alimentos, bebidas, fibras, energia e florestas plantadas;

XVI - condições *in situ* – condições em que o patrimônio genético existe em ecossistemas e habitats naturais e, no caso de espécies domesticadas ou cultivadas, nos meios onde naturalmente tenham desenvolvido suas características distintivas próprias, incluindo as que formem populações espontâneas;

XVII - condições *ex situ* – condições em que o patrimônio genético é mantido fora de seu habitat natural;

XVIII - envio de amostra – envio de amostra que contenha patrimônio genético para a prestação de serviços no exterior como parte de pesquisa ou desenvolvimento tecnológico na qual a responsabilidade sobre a amostra é de quem realiza o acesso no Brasil.

A sequência de passos a serem observados desde o cadastro da pesquisa até a exploração econômica de produtos e/ou processos pode ser compartilhada entre instituições, considerando que a pesquisa inicial pode ter sido desenvolvida e finalizada antes da entrada em vigor da Lei nº 13.123/2015. Porém precisa ser demonstrado por meio de apresentação de artigos científicos, resumos publicados em congressos, teses defendidas ou outro instrumento que demonstre que essa etapa já foi realizada.

Nesse contexto, estará sujeito à repartição de benefícios exclusivamente o fabricante do produto acabado ou o produtor do material reprodutivo, independentemente de quem tenha realizado o acesso anteriormente.

Para fins do disposto no inciso XVII do art. 2º da Lei nº 13.123, de 2015, os insumos utilizados nas atividades agrícolas são produtos intermediários. E consideram-se insumos para atividades agrícolas os bens que sejam consumidos na atividade de produção ou que sofram alterações, tais como o desgaste, o dano ou a perda de

propriedades físicas ou químicas, em função da ação diretamente exercida sobre o produto em fabricação, desde que não estejam incluídas no ativo imobilizado.

Conforme disposto no Art. 20 do Decreto nº 8.772/2015, o cadastro é prévio às seguintes atividades:

- I - à remessa;
- II - ao requerimento de qualquer direito de propriedade intelectual;
- III - à comercialização do produto intermediário;
- IV - à divulgação dos resultados, finais ou parciais, em meios científicos ou de comunicação;
- V - à notificação de produto acabado ou material reprodutivo desenvolvido em decorrência do acesso.

Antes de realizar quaisquer atividades citadas, primeiro deve-se cadastrá-la no SisGen, sob pena de aplicação de sanções pelo descumprimento.

Para atualizar os conceitos da antiga medida provisória sobre remessa e transporte de patrimônio genético, a Lei nº 13.123/2015 trouxe os conceitos de remessa e envio de patrimônio genético somente para o exterior.

A remessa é a transferência de amostra de patrimônio genético para instituição localizada fora do País com a finalidade de acesso, na qual a responsabilidade sobre a amostra é transferida para a destinatária. Não há exigência de cadastro da atividade de remessa, se ela é feita entre instituições dentro do território nacional. Cada instituição está livre para estabelecer seus modelos sem a exigência de apresentação ao SisGen do instrumento firmado entre as partes remetente e destinatária, bem como sobre as condições de uso do patrimônio genético estabelecidas.

Porém, apesar da flexibilização, a remessa ao exterior propriamente dita somente poderá ocorrer após seu cadastro no SisGen. Ou seja, uma vez emitido o recibo do cadastro nesse sistema, a amostra contendo o patrimônio genético poderá deixar o país, desde que observadas as demais normas que se aplicarem ao material a ser remetido. O remetente deve estar atento às exigências do país destinatário para evitar a destruição do material.

Em se tratando de remessa, é necessário que o solicitante, além de cadastrar previamente a remessa do patrimônio genético para o exterior, firme o Termo de Transferência de Material (TTM), que é instrumento firmado entre remetente e destinatário para remessa ao exterior de uma ou mais amostras contendo patrimônio genético acessado ou disponível para acesso, que indica, quando for o caso, se houve acesso a conhecimento tradicional associado e que estabelece o compromisso de repartição de benefícios de acordo com as regras previstas nessa lei. O modelo de

TTM a ser utilizado para a finalidade de remessa foi aprovado pelo CGen por meio da Resolução nº 1, de 5 de outubro de 2016, e atualizado pela Resolução nº 12, de 18 de setembro de 2018 (Conselho de Gestão do Patrimônio Genético, 2016, 2018).

Além da remessa, na Lei nº 13.123/2016 há um novo conceito de envio de material: o envio de amostra que contenha patrimônio genético para a prestação de serviços no exterior como parte de pesquisa ou desenvolvimento tecnológico na qual a responsabilidade sobre a amostra é de quem realiza o acesso no Brasil.

O Decreto nº 8.772/2016 considera prestação de serviços no exterior a execução de testes ou atividades técnicas especializadas pela instituição parceira da instituição nacional responsável pelo acesso ou por ela contratada, mediante retribuição ou contrapartida.

No SisGen, disponibilizou-se formulário eletrônico no cadastro de acesso para que a pessoa jurídica nacional, pública ou privada, cadastre o envio de amostra que contenha patrimônio genético para a prestação de serviços no exterior como parte de pesquisa ou desenvolvimento tecnológico. No caso de sequenciamento, não é obrigatório o uso do TTM aprovado pelo CGen. Nos demais casos, é necessário apresentar o instrumento jurídico firmado entre a instituição nacional responsável pelo acesso e a instituição parceira ou contratada.

IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE AGENTES BIOLÓGICOS

A identificação do agente de controle biológico é uma etapa simples, mas fundamental para a qualidade do produto, visto que todo o restante do processo de desenvolvimento de um produto biológico depende da correta identificação do agente ou substância. Uma identificação equivocada influenciará a reprodutibilidade dos resultados e dos efeitos ambientais, agrônômicos e para a saúde humana estudados. Todos os dados da pesquisa e dos estudos de impacto serão baseados na biologia e comportamento do agente biológico ou da substância biológica utilizada (no caso dos semioquímicos). Assim, para o registro do produto será exigido uma identificação a mais precisa possível do agente biológico ou, no caso de produtos semioquímicos, uma caracterização química.

Para viabilizar o registro pela via simplificada, próprio para produtos com uso aprovados para a agricultura orgânica e descrito mais a frente neste capítulo, a identificação é um ponto crucial para a comprovação de que a empresa faça o

registro do seu produto com base nas especificações de referência. Assim, para agentes biológicos de controle, sejam eles inimigos naturais ou microrganismos, a identificação deve ser feita por especialistas em taxonomia de cada um dos agentes ou por submissão a uma coleção que ofereça o serviço de identificação e emissão de laudo técnico de identificação. Quando se tratar de microrganismo, é desejável que a identificação seja feita no nível mais específico possível (variedade, linhagem, etc.). Muitas vezes será exigida no ato do registro a identificação por linhagem, possível somente por técnicas mistas de biologia molecular, morfologia e bioquímica.

A exigência da identificação correta é porque os efeitos, tanto para a eficiência agrônômica quanto para a exposição direta ou ambiental a esses organismos, podem ser diferentes com a variação da espécie ou linhagem. O *Bacillus thuringiensis*, por exemplo, apresenta variações de produção de toxinas de relevância para a saúde humana de acordo com a variedade ou linhagem (Praça et al., 2007). Assim, a identificação e o controle de qualidade durante o processo de produção em maior escala impactam diretamente a saúde das pessoas expostas aos produtos biológicos que o utilizam como base.

Pelo mesmo motivo, as tecnologias de conservação desses agentes são importantes na cadeia de desenvolvimento de produtos biológicos. No caso dos microrganismos, a replicação em laboratório pode alterar a linhagem ou gerar contaminação por outra espécie, resultando na descaracterização do produto final e de seus efeitos.

Os agrotóxicos, componentes ou afins a serem utilizados em projetos de pesquisa e experimentação, sejam em laboratório ou em campo, devem ser previamente avaliados e possuir o Registro Especial Temporário (RET). O RET é concedido por tempo determinado, podendo conferir o direito de importar ou produzir a quantidade de produto necessária à pesquisa e à experimentação. A concessão do registro está sujeita à aprovação dos três órgãos reguladores de agrotóxicos, que avaliam os pleitos de RET segundo suas competências específicas. A solicitação de RET deverá ser feita por meio do Sistema Eletrônico de Requerimento e Análise de Registro Especial Temporário (Sisret), ou encaminhada/protocolizada na forma impressa, atendendo ao disposto na INC Mapa/Ibama/Anvisa nº 25/2005 (Brasil, 2002b). No caso dos produtos biológicos, o foco da avaliação do RET será identificar se a atividade de experimentação apresenta segurança suficiente para que o agente biológico não se torne uma praga ou apresente risco de causar impactos à saúde, ao ambiente e à agricultura.

TESTES PARA EMBASAR O REGISTRO DE PRODUTOS COMERCIAIS

Além da exigência da apresentação do RET no pleito de registro definitivo, uma série de outras informações e estudos serão exigidos. Para a avaliação dos aspectos agronômicos, serão exigidos testes de eficiência agrônômica em campo que suportem a indicação de uso do produto contemplando todos os aspectos que interferem na praticabilidade da tecnologia proposta, tais como dose, preparo da calda (se for o caso), forma de aplicação, indicação da cultura e do alvo biológico (podendo haver mais de uma cultura ou alvo). Também interferirá na eficiência agrônômica do produto a sua formulação, a forma e a temperatura de transporte e o armazenamento e a estabilidade do produto comercial. Para avaliar a estabilidade, existem protocolos específicos para formulações químicas, conhecidos como teste de estabilidade (teste de prateleira ou estabilidade acelerada), que devem ser adaptados para cada caso de produto de origem biológica. Durante o desenvolvimento do produto, chegar a uma formulação ou logística de produção (no caso dos agentes biológico de controle) que atenda de forma positiva a todos esses aspectos já representa um grande desafio. A maioria dos semioquímicos, por exemplo, apresenta boa especificidade e eficiência, mas em geral são substâncias voláteis e, portanto, instáveis. Por isso, em geral, são utilizadas incorporadas a algum tipo de suporte ou veículo, tais como os septos de borracha, cartelas ou formulações pastosas que permitam a sua liberação no ambiente de forma lenta, controlada e contínua.

Para a avaliação do impacto do uso de um produto biológico à saúde humana e ao meio ambiente, é realizado um estudo de avaliação toxicológica baseado em um dossiê contendo diversas informações e estudos realizados pela empresa ou empreendedor pleiteante do registro apresentados à Anvisa. No caso da análise do impacto ambiental, esses estudos e informações são apresentados ao Ibama para que o órgão faça sua análise e emita um parecer de periculosidade ambiental. Conforme já citado, a política de diferenciação dos produtos de origem biológica permitiu a simplificação e adequação necessária dessas exigências à natureza biológica desses produtos. Os estudos devem seguir protocolos reconhecidos. Os protocolos específicos para agentes microbiológicos de controle, tais como os de teste patogenicidade, foram estudados e validados pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (em inglês, Environmental Protection Agency – EPA), e estão disponíveis em seu sítio eletrônico. É importante estudar bem esses protocolos e respeitar as recomendações existentes para que, no ato do registro, um estudo não seja rejeitado por inconformidade.

Em geral esses estudos têm um custo alto, além de utilizarem um número considerável de cobaias.

A avaliação de um produto é faseada no caso dos microbiológicos e dos semioquímicos aplicados diretamente na cultura tratada ou no ambiente, possibilitando que o requerente entregue um número limitado de testes em um primeiro momento. O objetivo é avaliar danos potenciais do agente a organismos indicadores que representam os principais grupos de organismos não alvo. No caso da avaliação toxicológica para a saúde, esses organismos indicadores são espécies de mamíferos (coelhos, ratos e cobaias). Na Tabela 1, mostra-se um panorama de quais estudos são testes mínimos para compor um pleito de registro de agrotóxicos de origem biológica visando à avaliação do impacto na saúde humana. Geralmente, na Fase I os organismos indicadores são submetidos a uma dose única máxima do produto ou agente, estabelecendo-se um sistema em que a chance de expressão dos efeitos indesejáveis é máxima. A ausência de danos aos organismos indicadores nessa fase implica um alto grau de confiança de que nenhum efeito adverso ocorrerá decorrente da exposição real do microrganismo ou semioquímico. Se efeitos adversos forem observados na Fase I, então os testes da Fase II são realizados. Nesta fase a exposição potencial dos organismos não alvo ao agente microbiológico de controle é estimada. Se os testes da Fase II mostrarem que pode haver exposição dos organismos não alvo ao agente de controle, então a Fase III torna-se necessária. Os testes da Fase III servem para determinar efeitos dose-resposta ou certos efeitos crônicos. Os testes da Fase IV avaliam qualquer problema específico não resolvido nas fases anteriores, e são realizados sob condições ambientais simuladas ou reais de campo, elaboradas caso a caso.

No caso da avaliação de periculosidade ambiental, são exigidos testes que expõem mamíferos ao produto ou ativo biológico, bem como outras espécies representantes da fauna ambiental, como minhocas, abelhas, aves, peixes e microcrustáceos.

Tabela 1. Análise comparativa dos testes laboratoriais para avaliação toxicológica de diferentes categorias de agrotóxicos de origem biológica, conforme a caracterização físico-química ou biológica, dose letal (DL50, CL50), irritação ocular e dermal, teste de mutagenicidade ($T_{mut.}$), estudos de patogenicidade, infectividade e toxicidade ($E_{pat.}$) e estudo de resíduos ($E_{res.}$).

Categoria	Caracterização	Dose letal	Hipersensibilidade	Irritação	$T_{mut.}$	$E_{pat.}$	$E_{res.}$
Semioquímico	Sim	CR	CR	CR	CR	Não	CR
Microbiológico	Sim	Não	Sim	Sim	Não	Sim	Não
Agente biológico de controle	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não

DL50: dose letal (oral, dermal) para 50% da população; CL50: concentração letal (inalatória) para 50% da população; CR: condicionalmente requerido.

Fonte: Adaptado de Jorge (2012).

No caso das categorias dos semioquímicos e dos microrganismos, que apresentam avaliação realizada por fases, os estudos exigidos na primeira fase da avaliação toxicológica entram como requisitos mínimos.

Os casos em que os testes são assinalados como condicionalmente requeridos se aplicam aos semioquímicos cujas formas de aplicação envolvem o contato direto da cultura alimentar ou exposição do trabalhador e do ambiente. Como essas formas de indicação de uso são raras, na prática a maioria dos produtos semioquímicos poderá ter um dossiê de registro bem simplificado, que contenha apenas, conforme mostra a Tabela 1, a caracterização físico-química do ingrediente ativo.

No caso dos agentes biológicos de controle (predadores e parasitoides), por serem macrorganismos, não são esperados riscos de exposição para os quais se deve desenvolver um teste toxicológico. Assim, a caracterização biológica contendo uma série de informações descritas na INC nº 2/2006 basta para que os órgãos reguladores tenham condições de fechar suas avaliações agrônoma, ambiental e toxicológica (Brasil, 2006b).

VANTAGENS DOS PRODUTOS DE ORIGEM BIOLÓGICA

A utilização excessiva e mal-empregada dos agrotóxicos leva a, além de outros prejuízos, situações de resistência de pragas. Essa resistência gera uma demanda da agricultura por novas moléculas ou tecnologias, podendo levar a um esgotamento das opções de agrotóxicos para o controle fitossanitário. Geralmente os produtos biológicos, por atuarem em uma relação ambiental complexa no sistema praga/doença/cultura, apresentam menor possibilidade de resistência, o que representa uma vantagem agrônoma importante. Ademais, os produtos e tecnologias de origem biológica podem representar importantes opções de suporte fitossanitário no caso de culturas que tenham ingredientes ativos com autorização de uso cancelada.

Isso se deve às revisões de autorização dos agrotóxicos, processo chamado de reavaliação, que podem gerar a proibição e a retirada do mercado de diversos ingredientes ativos de agrotóxicos, seja por razão de avaliação toxicológica ou ambiental, seja por perda de eficácia agrônoma. O Decreto nº 4074/2002 (Brasil, 2002a) prevê essa atividade como obrigatória por parte dos órgãos reguladores. Embora também possa ocorrer a manutenção do ingrediente ativo, com ou sem restrições, ao final de um processo de reavaliação de agrotóxicos, essa atividade é fundamental para a melhoria do perfil toxicológico dos agrotóxicos utilizados no País.

Os ingredientes ativos de agrotóxicos que foram proibidos como consequência do processo de reavaliação realizados pela Anvisa apresentam características como: toxicidade aguda elevada; toxicidade reprodutiva e sobre o desenvolvimento embrionário, genotoxicidade, carcinogenicidade, neurotoxicidade, imunotoxicidade; e toxicidade endócrina ou hormonal (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2016a).

O sistema de produção convencional conta com um mercado de agrotóxicos extremamente concentrado e práticas agrícolas incorretas que levam à contaminação ambiental, exposição dos trabalhadores rurais e geram a presença de resíduos de agrotóxicos nos alimentos. Como forma de monitoramento do uso de agrotóxicos, a Anvisa coordena e fomenta o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (Para) (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2016b). O Para é responsável pela análise de resíduos de agrotóxicos em amostras de frutas, legumes, verduras e cereais produzidos por sistemas convencionais de produção. As amostras são coletadas em supermercados das capitais brasileiras e alguns outros municípios. Por anos, esse programa vem mostrando que o uso do agrotóxico no campo não segue as recomendações legais dispostas em bula. Em média, 30% das amostras avaliadas pelo Para apresentam resíduos de agrotóxicos em desconformidade, o que significa a presença de agrotóxicos nos alimentos não permitidos para uma determinada cultura alimentar ou em concentração acima do permitido para aquele ingrediente ativo agrotóxico (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2016b). Além disso, conforme pode ser observado nos relatórios do Para, são detectados vários tipos de agrotóxicos em uma mesma cultura. Muitas vezes foram detectados vários ingredientes ativos que haviam sido colocados em reavaliação toxicológica (revisão da autorização de uso de determinado ingrediente agrotóxico) por indícios de danos à saúde.

A adoção de outras práticas agrícolas poderia gerar melhores resultados do Para, ou seja, poderia diminuir ou erradicar a presença de resíduos nos alimentos nocivos à saúde. Como os produtos de origem biológica não deixam resíduos, e por isso apresentam autorização de uso para qualquer cultura com a ocorrência do alvo biológico, representam uma concreta possibilidade de melhoria da situação de resíduos de agrotóxicos nos alimentos. O uso de agentes biológicos de controle, uma vez que tenham sido aprovados pela avaliação toxicológica, apresenta grande vantagem para a saúde já que a liberação desses agentes no campo não expõe o ser humano a risco toxicológico algum.

Os semioquímicos também apresentam essa vantagem, visto que a maioria não tem indicação de uso com aplicação direta sobre as partes comestíveis da cultura (Brasil, 2006a). Em geral são inseridos em dispositivos capazes de liberar semioquímicos no ar para que atinjam os insetos e cumpram sua função. A forma de aplicação desse produto, geralmente inseridos dentro de armadilhas, confere uma vantagem

ambiental na medida em que a exposição de espécies não alvo é minimizada e a ação do produto é bastante específica. A ausência de resíduos nos alimentos também ocorre com a utilização dos agentes biológicos de controle e dos microrganismos. Os primeiros não interagem diretamente com as culturas alimentares tratadas e nem com os aplicadores. Já os microrganismos, mesmo quando aplicados diretamente sobre essas culturas, por serem biodegradáveis, e em sua maioria fazerem parte da própria microbiota dos ambientes agrícolas, não oferecem preocupação quanto à presença residual nos alimentos. Por essas razões, essas três categorias de produtos biológicos são dispensadas dos estudos de resíduos exigidos dos agrotóxicos convencionais para cada ativo e cada cultura para os quais pleiteiam o registro.

Diversos problemas têm sido causados em virtude do uso intensivo de agrotóxicos para o controle de doenças, pragas e plantas invasoras na agricultura, como a contaminação dos alimentos, do solo, da água e dos animais, a intoxicação de agricultores, a resistência a certos princípios ativos dos agrotóxicos, a alteração da ciclagem de nutrientes e matéria orgânica, a eliminação de organismos benéficos, como o declínio dos polinizadores e a redução da biodiversidade (Bettiol et al., 2009). Diante desse cenário, a utilização de produtos que causem menor impacto ao meio ambiente, como o controle biológico, deve ser incentivada. O fato de serem altamente específicos, e por isso não causarem distúrbios às espécies benéficas do ambiente agrícola, contribui para sua utilização em práticas agropecuárias mais sustentáveis.

POLÍTICAS PÚBLICAS PARA USO DE PRODUTOS BIOLÓGICOS

Desde o início da construção da Política Nacional de Agroecologia e Produção Orgânica (Pnapo), instituída em agosto de 2012, por meio do Decreto nº 7.794 (Brasil, 2012), foi ressaltada a importância do desenvolvimento e da regularização de produtos de origem biológica para a expansão de sistemas agrícolas sustentáveis. A Pnapo foi pensada para atingir não somente aqueles que já produzem de forma sustentável. Ela pretende ampliar a produção orgânica e de base agroecológica a partir da adesão dos agricultores familiares. Para isso, é fundamental fomentar a chamada transição agroecológica, oferecendo condições de conversão dos produtores convencionais a esses sistemas. No processo de transição, considera-se como ponto de partida as condições de desequilíbrio no ambiente agrícola consequentes do sistema convencional de agricultura. Assim, os produtos biológicos são considerados importantes insumos para essa política, pois representam tecnologias a serem empregadas no campo para otimizar as chances de sucesso dessa transição. Nesse contexto, surge a demanda de ampliação da oferta de produtos de origem biológica no mercado.

O Plano Nacional de Agroecologia e Produção Orgânica (Planapo) tem como uma das ações a organização de uma série de ações planejadas para operacionalizar a Pnapo (Brasil..., 2013). A elaboração e publicação de especificações de referência de produtos fitossanitários com uso aprovado para a agricultura orgânica foi incluída no Planapo como meta (Brasil..., 2013). Assim, o Pnapo trouxe um maior comprometimento dos órgãos reguladores com o processo de registro de produtos de origem biológica. Após o lançamento da política, com a entrada da publicação de especificações de referência como meta do Planapo, as equipes de técnicos que avaliam esse tipo de produto foram ampliadas nos três órgãos. Isso resultou em um maior desempenho na análise de pleitos de produtos biológicos. No entanto, somente o aumento da capacidade de análise técnica dos órgãos não garante o aumento da disponibilidade de insumos biológicos para a agricultura (Jorge; Souza, 2017). Muitas especificações de referência dependem da disponibilidade de testes e informações para que a análise técnica seja feita e as especificações publicadas.

Esse assunto, objeto de discussão da Pnapo, aprovou a elaboração e implementação do Programa Nacional de Bioinsumos, que envolverá um conjunto de iniciativas voltado para ampliar a oferta e o acesso a produtos biológicos. Podem-se citar entre essas: realização de estudos e testes de eficiência agrônoma para o estabelecimento de especificações de referência; elaboração de publicações técnicas; treinamento e formação para qualificação de agentes de assistência técnica e extensão rural, técnicos, agricultores e assentados da reforma agrária; levantamentos e sistematizações de experiências nacionais e internacionais e de conhecimentos científicos e empíricos relativos à produção e uso de bioinsumos (Jorge; Souza, 2017).

É eminente a demanda pela melhoria do cenário de uso de agrotóxicos no Brasil, principal consumidor mundial de agrotóxicos. Evidentemente esse cenário afeta diretamente a agricultura orgânica e agroecológica. Assim, em atendimento a uma meta do Planapo, foi elaborada a proposta de um Programa Nacional para a Redução do Uso de Agrotóxicos (Pronara). O processo de construção do Pronara, produzida pelo trabalho conjunto entre governo e sociedade, demarcou os principais passos e compromissos a serem seguidos para a melhoria do cenário do uso de agrotóxicos no Brasil. Na proposta, há seis eixos de atuação: registro; controle e monitoramento; medidas econômicas e financeiras; desenvolvimento de alternativas; informação, participação e controle social; e formação e capacitação (Articulação Nacional de Agroecologia, 2015). Embora a proposta não tenha sido implementada em forma de programa de governo, a elaboração dessa já representa um avanço, e as iniciativas que a compõem perpassam por áreas de atuação específicas de vários ministérios e órgãos vinculados a esses ministérios, podendo e devendo, desde já, serem implementadas (Jorge; Souza, 2017). Especificamente o eixo desenvolvimento de alternativas do Pronara tem como um dos objetivos ampliar e forta-

lecer a produção, a comercialização e o uso de produtos fitossanitários de menor perigo e risco a saúde e meio ambiente, principalmente os apropriados para uso na produção de base orgânica agroecológica. Portanto, mais uma vez ressalta-se a importância do desenvolvimento de produtos e tecnologias de origem biológica para a implementação da Pnapo e para possibilitar a redução dos impactos causados pelo uso de agrotóxicos convencionais no Brasil. Além da importância do desenvolvimento e da regularização de produtos de origem biológica para a expansão da agricultura orgânica diretamente, esses insumos também são importantes para a melhoria da qualidade de produção do sistema agrícola convencional, podendo inclusive minimizar as interferências e maximizar a coexistência desses dois tipos de sistemas produtivos no campo.

A via de registro de produtos especificados para a agricultura orgânica trouxe um incremento significativo no número de produtos de origem biológica registrados por dispensar a apresentação de estudos a cada produto comercial. A modalidade de registro para produtos destinados à agricultura orgânica, que teve início em junho de 2011 com a publicação das primeiras especificações de referência, já conta em 2019 com 113 produtos registrados (Brasil, 2003). Na Tabela 2, são apresentadas as especificações de referência publicadas até setembro de 2019, mostrando a gama de alvos biológicos possíveis de ser controlados por esses produtos/tecnologias. Uma análise desses dados em nível de espécie mostra um total de 54 alvos biológicos diferentes abrangidos pelo conjunto das 40 especificações de referência publicadas até o momento. Considerando que não há limitação legal para que esses produtos ou tecnologias especificadas sejam aplicados em determinadas culturas, esse conjunto possibilita um manejo agrícola em qualquer cultura na qual esses alvos representem um problema. A norma possibilita que a apresentação dos dados de eficiência agrônômica gere a atualização dos alvos biológicos das especificações de referência já publicadas. O desenvolvimento de pesquisas nessa área pode contribuir para a ampliação do universo de alvos biológicos controlado por essas especificações e se configura como um campo promissor para o trabalho da academia e instituições de pesquisa agrícola.

DESAFIOS E PERSPECTIVAS

O aumento do registro de produtos de origem biológica nos últimos anos mostra o impacto dos avanços regulatórios. A partir da publicação das normativas específicas do ano de 2006, as empresas começaram a se adequar e procuraram se regularizar. Em 2008, o setor de empresas de controle biológico fundou a Associação Brasileira de Empresas de Controle Biológico (ABCBio). Na Figura 1, mostra-se uma série histórica cumulativa do registro de agrotóxicos biológicos no Brasil.

Tabela 2. Especificações de referência publicadas de 2011 a 2019 para produtos destinados à agricultura orgânica.

Especificação	Classe	Alvo biológico
<i>Cotesia flavipes</i>	Agente biológico de controle	<i>Diatraea saccharalis</i> (broca-da-cana)
<i>Trichogramma galloi</i>	Agente biológico de controle	<i>D. saccharalis</i> (broca-da-cana)
<i>Neoseiulus californicus</i>	Agente biológico de controle	<i>Tetranychus urticae</i> (ácaro-rajado)
Isca vegetal à base de <i>Tephrosia candida</i>	Origem vegetal	<i>Atta sexdens rubropilosa</i> (saúvas)
		<i>Atta laevigata</i> (saúvas)
Baculovírus <i>Anticarsia gemmatalis</i>	Microrganismo	<i>Anticarsia gemmatalis</i> (lagarta-da-soja ou lagarta-desfolhadora)
Baculovírus <i>Condylorrhiza vestigialis</i>	Microrganismo	<i>Condylorrhiza vestigialis</i> (lagarta-do-álamo)
<i>Metarhizium anisopliae</i> , isolado IBCB 425	Microrganismo	<i>Mahanarva fimbriolata</i> (cigarrinha-da-raiz)
		<i>Zulia entreriana</i> (cigarrinha-das-pastagens)
		<i>Deois flavopicta</i> (cigarrinha-das-pastagens; cigarrinha-dos-capinzais)
<i>Trichoderma stromaticum</i> , isolado Ceplac 3550	Microrganismo	<i>Moniliophthora perniciosa</i> (vassoura-de-bruxa-do-cacaueiro)
		<i>Erysiphe polygoni</i> (oídio-do-feijoeiro)
<i>Azadirachta indica</i>	Origem vegetal	<i>Bemisia argentifolii</i> (mosca-branca)
		<i>Bemisia tabaci</i> (mosca-branca)
<i>Beauveria bassiana</i> , IBCB 66	Microrganismo	<i>B. tabaci</i> raça B (mosca-branca)
		<i>Cosmopolites sordidus</i> (moleque-da-bananeira)
		<i>Tetranychus urticae</i> (ácaro-rajado)
		<i>Dalbulus maidis</i> (cigarrinha-do-milho)
<i>Phytoseiulus macropilis</i>	Agente biológico de controle	<i>T. urticae</i> (ácaro-rajado)
<i>Trichogramma pretiosum</i>	Agente biológico de controle	<i>Tuta absoluta</i> (traça-do-tomateiro)
		<i>Helicoverpa zea</i> (broca-grande-do-tomate/lagarta-da-espiga-do-milho)
		<i>Spodoptera frugiperda</i> (lagarta-do-cartucho-do-milho)
		<i>Anticarsia gemmatalis</i> (lagarta-da-soja) <i>Chrysodeixis includens</i> (syn: <i>Pseudoplusia includes</i>) (lagarta-falsa-medideira)
Regulador de crescimento à base de <i>Ecklonia maxima</i>	Origem vegetal	Eficiência agrônômica comprovada para algodão, milho e soja

Continua...

Tabela 2. Continuação.

Especificação	Classe	Alvo biológico
Terra de diatomáceas (dióxido de silício)	Mineral ⁽¹⁾	<i>Acanthoscelides obtectus</i> (caruncho-do-feijão; gorgulho-do-feijão)
		<i>Rhyzopertha dominica</i> (besourinho; besouro)
		<i>Sitophilus oryzae</i> (caruncho-dos-cereais; gorgulho-dos-grãos-armazenados; caruncho ou gorgulho-do-arroz)
		<i>Sitophilus zeamais</i> (caruncho-dos-cereais; gorgulho-do-milho)
		<i>Cryptolestes ferrugineus</i> (besouro; escaravelho)
		<i>Tribolium castaneum</i> (besouro-castanho)
<i>Oryzaephilus surinamensis</i> (besouro)		
<i>Paecilomyces lilacinus</i> , isolado UEL Pae 10	Microrganismo	<i>Meloidogyne incognita</i> (nematoide-das-galhas)
<i>Stratiolaelaps scimitus</i>	Agente biológico de controle	<i>Bradysia matogrossensis</i> (fungus gnats)
<i>Deladenus siridicola</i>	Agente biológico de controle	<i>Sirex noctilio</i> (vespa-da-madeira)
<i>Cryptolaemus montrouzieri</i>	Agente biológico de controle	<i>Maconellicoccus hirsutus</i> (cochonilha-rosada)
<i>Trichoderma asperellum</i> , isolado URM-5911	Microrganismo	<i>Rhizoctonia solani</i> (tombamento, podridão-radicular, fungo de solo)
		<i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>phaseoli</i> (podridão-radicular-seca)
Baculovírus <i>Spodoptera frugiperda</i>	Microrganismo	<i>Spodoptera frugiperda</i> (lagarta-do-cartucho-do-milho)
<i>Chrysoperla externa</i>	Agente biológico de controle	<i>B. tabaci</i> biótipo B (mosca-branca)
		<i>Myzus persicae</i> (pulgão-verde; pulgão-verde-claro)
		<i>Schizaphis graminum</i> (pulgão-verde-dos-cereais)
<i>Trissolcus basalus</i>	Agente biológico de controle	<i>Nezara viridula</i> (percevejo-verde)
<i>Orius insidiosus</i>	Agente biológico de controle	<i>Franklinella occidentalis</i> (tripes)
<i>Trichoderma asperellum</i> , isolado CBMAI 840 (T-211)	Microrganismo	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (mofo-branco; podridão de esclerotinia)
		<i>Rhizoctonia solani</i> (tombamento)
		<i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>glycines</i> (podridão vermelha da raiz)

Continua...

Tabela 2. Continuação.

Especificação	Classe	Alvo biológico
<i>Bacillus subtilis</i> , isolado UFPEDA 764	Microorganismo	<i>Meloidogyne javanica</i> (nematoide-das-galhas)
		<i>Pratylenchus brachyurus</i> (nematoide-das-lesões)
<i>Trichoderma harzianum</i> , isolado IBLF006	Microorganismo	<i>Rizoctonia solani</i> (damping-off; tombamento)
		<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (mofo-branco; podridão de esclerotinia)
<i>Bacillus methylothrophicus</i> , isolado UFPEDA 20	Microorganismo	<i>M. javanica</i> (nematoide-das-galhas)
		<i>P. brachyurus</i> (nematoide-das-lesões)
<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>Kurstaki</i> , isolado HD-1 (S1450) (CCT1306)	Microorganismo	<i>Alabama argillacea</i> (curuquerê; curuquerê-do-algodoeiro)
		<i>S. frugiperda</i> (lagarta-militar; lagarta-do-cartucho)
		<i>Anticarsia gemmatalis</i> (lagarta-da-soja)
		<i>Chrysodeixis includens</i> (syn: <i>Pseudoplusia includens</i>) (lagarta-falsa-medideira)
<i>B. bassiana</i> , isolado CBMAI 1306	Microorganismo	<i>Diabrotica speciosa</i> (vaquinha-verde-amarela; larva-alfinete)
<i>B. bassiana</i> , isolado IBCB 66 + <i>Metarhizium anisopliae</i> , isolado IBCB 425	Microorganismo	<i>Deois flavopicta</i> (cigarrinha-das-pastagens; cigarrinha-dos-capinzais)
		<i>Euschistus heros</i> (percevejo-marrom)
Acetato de (Z)-8-dodecenila + Acetato de (E)-8-dodecenila + (Z)-8-dodecenol (monitoramento - uso em armadilha)	Semioquímico	<i>Grapholita molesta</i> (mariposa-oriental)
Acetato de (E)-8-dodecenila + Acetato de (Z)-8-dodecenila + (Z)-8-dodecenol (monitoramento - uso em armadilha)	Semioquímico	<i>G. molesta</i> (mariposa-oriental)
Acetato de (Z)-8-dodecenila + Acetato de (E)-8-dodecenila + (Z)-8-dodecenol (disrupção do acasalamento)	Semioquímico	<i>G. molesta</i> (mariposa-oriental)
		<i>Ecdytolopa aurantiana</i> (bicho-furão-dos-citros)
Acetato de (E)-8-dodecenila + Acetato de (Z)-8-dodecenila + (Z)-8-dodecenol (disrupção do acasalamento)	Semioquímico	<i>G. molesta</i> (mariposa-oriental)
		<i>E. aurantiana</i> (bicho-furão-dos-citros)
<i>B. thuringiensis</i> , isolado CBMAI 1398	Microorganismo	<i>Plutella xylostella</i> (traça-das-crucíferas)
		<i>Helicoverpa armigera</i> (helicoverpa; lagarta; lagarta-do-algodão; lagarta-das-vagens)

Continua...

Tabela 2. Continuação.

Especificação	Classe	Alvo biológico
<i>Diachasmimorpha longicaudata</i>	Agente biológico de controle	<i>Anastrepha</i> spp. ⁽²⁾ (moscas-das-frutas)
		<i>Bactrocera carambolae</i> (mosca-das-frutas; mosca-da-carambola)
		<i>Ceratitis capitata</i> (mosca-das-frutas; mosca-do-mediterrâneo)
<i>Bacillus amiloliquefaciens</i> , isolado CBMAI 1301	Microrganismo	<i>Colletotrichum lindemuthianum</i> (antracnose)
		<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (antracnose)
<i>Purpureocillium lilacinum</i> (syn. <i>Paecilomyces lilacinus</i>), isolado LAMIPEXT 08 2015	Microrganismo	<i>M. incognita</i> (nematóide-das-galhas; meloidoginose)
		<i>P. brachyurus</i> (nematóide-das-lesões)
<i>Trichoderma harzianum</i> , isolado IBLF1278 + <i>Trichoderma harzianum</i> , isolado IBLF1282 + <i>Trichoderma viride</i> , isolado IBLF1275 + <i>Trichoderma viride</i> , isolado IBLF1276	Microrganismo	<i>R. solani</i> (tombamento ou dumping-off)
		<i>Fusarium oxysporum</i> (murcha de <i>Fusarium</i>)
<i>Telenomus podisi</i>	Agente biológico de controle	<i>E. heros</i> (percevejo-marrom)

⁽¹⁾ Por sua natureza mineral, o produto não pode ser contabilizado como os de origem biológica, tendo sido incluído apenas para especificação de referência.

⁽²⁾ Espécies *Anastrepha* que estão presentes no Brasil.

Fonte: Brasil (2017).

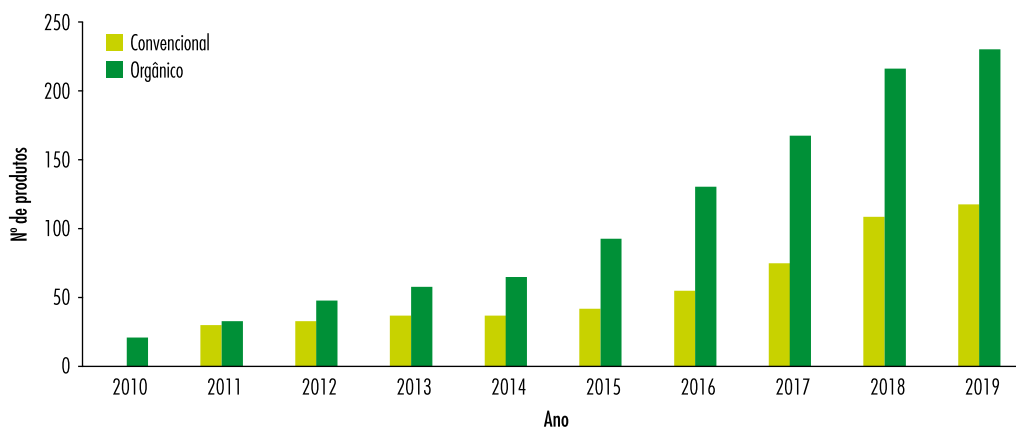


Figura 1. Série histórica cumulativa dos produtos biológicos registrados no Brasil (exceto produtos com registro emergencial), até setembro de 2019, para aplicação em sistema de produção convencional e orgânico.

Até 2010, a modalidade de registro que obedece ao disposto nas INCs nº 02 e 03, citadas anteriormente, era a única disponível para produto biológico a ser utilizado na agricultura, com 21 produtos registrados. Esse número subiu para 118 em 2019. Em 2011, foram publicadas as primeiras especificações de referência, dando base para os primeiros registros de produtos fitossanitários com uso aprovado para a agricultura orgânica, que hoje conta com 113 produtos registrados.

A entrada no Brasil da lagarta *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1805) (Lepidoptera: Noctuidae) gerou a publicação de uma lista de ingredientes ativos que teriam pleitos priorizados para o controle dessa nova praga nas lavouras de milho e algodão no País. Vários agentes biológicos foram contemplados, e isso fez os pleitos de registro de biológicos duplicarem de um ano para outro, mantendo-se ainda em alta em 2015.

Hoje mais de 230 produtos comerciais a base de microrganismos ou agentes biológicos de controle (parasitoides e predadores) encontram-se registrados. Além desses, existem outros produtos de origem biológica igualmente importantes para práticas agrícolas sustentáveis, tais como os produtos semioquímicos, totalizando aproximadamente 280 produtos comerciais disponíveis (Brasil, 2003).

O setor produtivo também tem apontado a tendência ao crescimento da utilização e comercialização desses produtos no Brasil. Segundo a ABCBio, as taxas anuais indicam crescimento de até 20% nas vendas desses produtos. E o mercado mundial de produtos biológicos tem registrado índice de crescimento 5 vezes superior ao da indústria de agrotóxicos químicos. A projeção de expansão no mercado brasileiro é de 15% a 20% nos próximos anos, segundo dados consolidados pela CPL Business Consultants, de 2011 a 2014 (Associação Brasileira das Empresas de Controle Biológico, 2016).

Os produtos de origem biológica registrados ainda são pouco conhecidos. A divulgação desses produtos e tecnologias deve ser ampliada para diversos públicos-alvos. Em geral o porte das empresas fabricantes de produtos biológicos é bem menor que o das outras empresas, e isso repercute na capacidade de capilarização e divulgação de seus produtos. Hoje, a principal fonte de informação sobre os produtos de origem biológica registrados, considerando-se o meio convencional e o dos produtos com uso aprovado para a agricultura orgânica, é o Agrofit, banco de dados sobre produtos agroquímicos e afins, disponível no portal do Mapa. No entanto, isso é insuficiente para gerar a expansão do uso de produtos biológicos.

Por fim, conhecer a legislação e os meios de regulamentação dos produtos de origem biológica é fundamental para a orientação da pesquisa, desenvolvimento, produção e comercialização desses produtos. Além de colaborar para a estruturação da cadeia de produtos biológicos, o processo de regulamentação traz mais segurança para quem o utiliza e expande as possibilidades de mercado. Quanto mais cedo, nos elos da cadeia

produtiva, forem internalizados os fundamentos e as normas dessa regulação, maiores as chances de se desenvolver um produto que de fato atingirá o mercado, atendendo à legislação vigente. Além disso, avaliando-se a possibilidade de compartilhamento de informações pelo registro dos produtos biológicos para a agricultura orgânica, a interação entre a academia, o setor produtivo e os órgãos reguladores pode, por meio de ações sinérgicas, contribuir para acelerar os processos de regularização.

Ainda, o aprimoramento da regulação é fundamental para que o processo de adequação não represente um gargalo para a cadeia produtiva, mas sim incentive o registro. O registro desses produtos colabora para a disponibilidade de novas tecnologias, tanto para aplicação na agricultura orgânica, quanto na convencional, podendo contribuir para a redução do uso de agrotóxicos na agricultura como um todo, para a redução do impacto ambiental, redução dos resíduos de agrotóxicos em alimentos, bem como para o fornecimento de opções para implementação do manejo integrado no campo.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA)**. Disponível em: <<https://goo.gl/DB0kx0>>. Acesso em: 17 nov. 2016a.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Reavaliação de agrotóxicos**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/registros-e-autorizacoes/agrotoxicos/produtos/reavaliacao-de-agrotoxicos>>. Acesso em: 11 nov. 2016b.
- ARTICULAÇÃO NACIONAL DE AGROECOLOGIA. **Pronara já**: pela implementação imediata do Programa Nacional para Redução de Agrotóxicos. Rio de Janeiro: AS-PTA, 2015. 8 p.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS EMPRESAS DE CONTROLE BIOLÓGICO. **Mercado de defensivo agrícola biológico tem boas perspectivas no país**. São Paulo, 2016. Disponível em: <<https://goo.gl/MQ1VPS>>. Acesso em: 25 out. 2016.
- BETTIOL, W.; GHINI, R.; MARIANO, R. R. L.; MICHEREFF, S. J.; MATTOS, L. P. V.; MOLO ALVARADO, I. del C.; PINTO, Z. V. Supressividade a fitopatógenos habitantes do solo. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas**: uso e perspectivas. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 187-208.
- BRASIL (Constituição). Constituição da República Federativa do Brasil de 1988. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, 5 out. 1988. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/constituicao/constituicao.htm>. Acesso em: 17 nov. 2017.
- BRASIL agroecológico: Plano Nacional de Agroecologia e Produção Orgânica – Planapo. Brasília, DF: Ministério do Desenvolvimento Agrário, 2013. 96 p.
- BRASIL. Congresso. Câmara dos Deputados. Decreto legislativo nº 2, de 1994. Aprova o texto do Convenção sobre Diversidade Biológica, assinada durante a Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento, realizada na Cidade do Rio de Janeiro, no período de 5 a 14 de junho de 1992. **Coleção das Leis do Brasil**, v. 3, p. 1354, 1994. Disponível em: <<https://www2.camara>

leg.br/legin/fed/decleg/1994/decretolegislativo-2-3-fevereiro-1994-358280-publicacaooriginal-1-pl.html>. Acesso em: 17 nov. 2017.

BRASIL. Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências.

Diário Oficial da União, 8 jan. 2002a.

BRASIL. Decreto nº 6.913, de 23 de julho de 2009. Acresce dispositivos ao Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, que regulamenta a Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins. **Diário Oficial da União**, 24 jul. 2009.

BRASIL. Decreto nº 7.794, de 20 de agosto de 2012. Institui a Política Nacional de Agroecologia e Produção Orgânica. **Diário Oficial da União**, 21 ago. 2012.

BRASIL. Decreto nº 8.772, de 11 de maio de 2016. Regulamenta a Lei nº 13.123, de 20 de maio de 2015, que dispõe sobre o acesso ao patrimônio genético, sobre a proteção e o acesso ao conhecimento tradicional associado e sobre a repartição de benefícios para conservação e uso sustentável da biodiversidade. **Diário Oficial da União**, 12 maio 2016.

BRASIL. Instrução Normativa Conjunta nº 1, de 23 de janeiro de 2006. **Diário Oficial da União**, 26 jan. 2006a.

BRASIL. Instrução Normativa Conjunta nº 2, de 23 de janeiro de 2006. **Diário Oficial da União**, 26 jan. 2006b.

BRASIL. Instrução Normativa Conjunta nº 25, de 14 de setembro de 2005. **Diário Oficial da União**, 15 set. 2002b.

BRASIL. Instrução Normativa Conjunta nº 3, de 10 de março de 2006. **Diário Oficial da União**, 15 mar. 2006c.

BRASIL. Lei nº 11.516, de 28 de agosto de 2007. Dispõe sobre a criação do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - Instituto Chico Mendes; altera as Leis nos 7.735, de 22 de fevereiro de 1989, 11.284, de 2 de março de 2006, 9.985, de 18 de julho de 2000, 10.410, de 11 de janeiro de 2002, 11.156, de 29 de julho de 2005, 11.357, de 19 de outubro de 2006, e 7.957, de 20 de dezembro de 1989; revoga dispositivos da Lei nº 8.028, de 12 de abril de 1990, e da Medida Provisória nº 2.216-37, de 31 de agosto de 2001; e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, 28 ago. 2007.

Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2007/Lei/L11516.htm>. Acesso em: 17 nov. 2017.

BRASIL. Lei nº 13.123, de 20 de maio de 2015. Regulamenta o inciso II do § 1º e o § 4º do art. 225 da Constituição Federal, o Artigo 1º, a alínea j do Artigo 8º, a alínea c do Artigo 10, o Artigo 15 e os §§ 3º e 4º do Artigo 16 da Convenção sobre Diversidade Biológica, promulgada pelo Decreto nº 2.519, de 16 de março de 1998; dispõe sobre o acesso ao patrimônio genético, sobre a proteção e o acesso ao conhecimento tradicional associado e sobre a repartição de benefícios para conservação e uso sustentável da biodiversidade; revoga a Medida Provisória nº 2.186-16, de 23 de agosto de 2001; e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, 14 maio 2015.

BRASIL. Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, 12 jul. 1989.

BRASIL. Medida provisória nº 2.186-16, de 23 de agosto de 2001. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, 24 ago. 2001. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/mpv/2186-16.htm>. Acesso em: 17 nov. 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Agrofit**. 2003. Disponível em: <<https://goo.gl/4sy1yM>>. Acesso em: 17 nov. 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Ato nº 7, de 12 de março de 2010. **Diário Oficial da União**, 13 mar. 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Ato nº 29, de 7 de julho de 2011. Agentes biológicos de controle. **Diário Oficial da União**, 8 jul. 2011. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Conjunta nº 3, de 19 de agosto de 2014. **Diário Oficial da União**, 20 ago. 2014. Seção 1, p. 5.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Registro**: produtos fitossanitários com uso aprovado para a agricultura orgânica. Disponível em: <<https://goo.gl/ScbHZj>>. Acesso em: 17 nov. 2017.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **SisGen**. 2018. Disponível em: <<https://www.mma.gov.br/patrimonio-genetico/conselho-de-gestao-do-patrimonio-genetico/sis-gen>>. Acesso em: 17 nov. 2017.

CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO. Resolução CGen/MMA nº 12, de 18.09.2018. Aprova o modelo de Termo de Transferência de Material - TTM, e revoga a Resolução CGen nº 05, de 2018. **Diário Oficial da União**, 19 out. 2018. Seção 1, p. 85. Disponível em: <https://www.mctic.gov.br/mctic/opencms/legislacao/outros_atos/resolucoes/Resolucao_CGen_MMA_n_12_de_18092018.html>. Acesso em: 17 nov. 2017.

CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO. Resolução nº 1, de 5 de outubro de 2016. Aprova o modelo de Termo de Transferência de Material - TTM. **Diário Oficial da União**, 30 nov. 2016. Seção 1, p. 76. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/constituicao/constituicao.htm>. Acesso em: 17 nov. 2017.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE. Instrução Normativa nº 3, de setembro de 2014. Fixa normas para a utilização do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade – SISBio. **Diário Oficial da União**, 18 jun. 2015. Com ratificação. Disponível em: <http://www.icmbio.gov.br/sisbio/images/stories/instrucoes_normativas/INSTRU%C3%87%C3%83O_NORMATIVA_ICMBio_N%C2%BA_3_DE_2014_com_retifica%C3%A7%C3%A3o_do_DOU18062015.pdf>. Acesso em: 17 nov. 2017.

JORGE, D. M. Agrotóxicos biológicos no Brasil: colaborações e desafios para uma agricultura saudável. In: VILLALOBOS, J.; FAZOLLI, S. A. (Org.). **Agrotóxicos**: um enfoque multidisciplinar. Maringá: Editora Universitária da Universidade Estadual de Maringá, 2012. p. 85-105.

JORGE, D. M.; SOUZA, C. A. V. de. O papel da regulamentação dos produtos de origem biológica no avanço da agroecologia e da produção orgânica no Brasil. In: SAMBUICHI, R. H. R.; MOURA, I. F. de; MATTOS, L. M. de; AVILA, M. L. de; SPINOLA, P. A. C.; SILVA, A. P. M. da (Org.). **A política nacional de agroecologia e produção orgânica no Brasil**: uma trajetória de luta pelo desenvolvimento rural sustentável. Brasília, DF: Ipea, 2017. p. 229-253.

PRAÇA, L. B.; MARTINS, E. S.; MELATTI, V. M.; MONNERAT, R. G. **Bacillus thuringiensis Berliner (Eubacteriales: Bacillaceae)**: aspectos gerais, modo de ação e utilização. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. 40 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos, 239).

VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; ANDREI, C. C. Plantas e inseticidas. In: SIMÕES, C. M.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P. de; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Org.). **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 5. ed. Porto Alegre: Ed. da UFRGS; Florianópolis: Ed. da UFSC, 2003. p. 751-766.

CAPÍTULO 15

Novas tecnologias aplicáveis ao controle biológico

Maria Cleria Valadares-Inglis
Eliana Maria Gouveia Fontes
Marcos Rodrigues de Faria

O controle químico é um método de combate a pragas agrícolas usado massivamente. Seu uso, muitas vezes, é visto como o único meio de produzir alimentos em quantidades suficientes para garantir a segurança alimentar global. Agricultores investem milhares de dólares no controle de pragas para prevenir as perdas anuais causadas por insetos, que são estimadas em US\$ 17,7 bilhões. No mundo todo, aproximadamente US\$ 40 bilhões são gastos com pesticidas químicos (Oliveira et al., 2014; Chattopadhyay et al., 2017). De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), o Brasil é responsável por 20% do consumo mundial de agrotóxicos, totalizando um consumo anual superior a 300 mil toneladas. No País, nos últimos 40 anos, houve um aumento de 700% no consumo de agrotóxicos, e de 78% da área agrícola. No entanto, o modelo agrícola baseado no uso intensivo e quase que exclusivo de pesticidas químicos e de outros insumos externos tem se mostrado insustentável, o que preocupa os diversos segmentos da sociedade. Isso tem levado a uma demanda crescente por alternativas que atendam às diferentes legislações ambientais e às exigências dos consumidores. Nesse contexto, tem sido identificada uma preferência por produtos naturais, mais seguros e de qualidade atestada, cuja produção cause menos agressão ao meio ambiente e menos pegada de carbono (Brasil Food Trends 2020, 2017). Essa tendência tem configurado um mercado cada vez mais pungente de produtos de base biológica para a agricultura, movimentando iniciativas de pequenas, médias e grandes empresas.

Na União Europeia, em 2009, aprovou-se um pacote legislativo para efetiva adoção de programas de Manejo Integrado de Pragas, que gerou uma demanda pelo uso sustentável de agrotóxicos, oferecendo oportunidades para maior inserção

de agentes de controle biológico no mercado. Ações dessa natureza também ocorreram no legislativo brasileiro, como o Projeto de Lei nº 679 de 2011 (Brasil, 2011, art. 21), que criou a Política Nacional de Apoio ao Agrotóxico Natural, e o Decreto nº 7.794, de 20/08/2012 (Brasil, 2012), que instituiu a Política Nacional de Agroecologia e Produção Orgânica. Os produtos fitossanitários com uso aprovado para a agricultura orgânica só podem utilizar substâncias e técnicas de preparo permitidas pela legislação brasileira para produção orgânica [Instrução Normativa (IN) nº 46 de 6/10/2011 (Brasil, 2011), alterada pela IN nº 17 de 18/6/2014 (Brasil, 2014)]. Esses atos legislativos são discutidos com maior profundidade no Capítulo 14, Regulamentação da Pesquisa e do Registro de Produtos de Controle Biológico, deste livro.

A promessa de reduzir o uso de pesticidas continua sendo um dos principais incentivos também para a pesquisa e desenvolvimento do controle biológico de pragas, cuja aceitação vem crescendo em todo o mundo. Hoje existem pelo menos três grandes revistas científicas internacionais dedicadas exclusivamente a esse tema. A pesquisa vem se expandindo para além do uso agrícola, na busca de alternativas coerentes para prevenir ou controlar a invasão de plantas e animais em áreas naturais, como parques, reservas ambientais (Van Driesche et al., 2010) e ambientes marinhos (Hoddle, 1999).

Este livro foca nos fundamentos do controle biológico e nos métodos para a condução de pesquisas voltadas para o desenvolvimento e utilização do controle biológico de insetos, ácaros, nematoides, doenças de plantas e plantas invasoras, e expande para o uso de semioquímicos. Descreve ainda a legislação brasileira afeta à pesquisa, registro e comercialização de agentes de controle biológico, e finaliza com uma análise do mercado de produtos biológicos para o controle de pragas, tal como se apresenta no ano de publicação do livro. Todos os capítulos baseiam-se na literatura existente e na experiência pessoal dos autores para descrever a taxonomia, biologia e ecologia dos inimigos naturais das pragas agrícolas, e o uso desses inimigos naturais para o desenvolvimento de agentes de controle biológico.

Este capítulo relata sumariamente os principais avanços em ciência e inovação que têm o potencial de influenciar o desenvolvimento a curto prazo do controle biológico de pragas. Ao final do livro, apresenta-se um retrato das perspectivas de mercado para o controle biológico em 2018.

USO DE FERRAMENTAS MOLECULARES

Análises moleculares se destacam como ferramentas de pesquisa científica, inclusive no controle biológico. Métodos moleculares estão sendo usados para a

identificação taxonômica mais precisa das espécies, sendo muito útil, por exemplo, para diferenciar espécies crípticas e identificar cepas de microrganismos. São usados também para esclarecer aspectos relevantes da biológica e ecologia de pragas e seus agentes de controle biológico, permitindo melhor compreensão dos mecanismos de ação e interações inter e intraespecíficas. Nesse contexto, uma linha de pesquisa de grande potencial é o uso de ferramentas moleculares para a caracterização de redes tróficas, fundamental para muitas questões do controle biológico. A descrição mais completa das interações tróficas que ocorrem naturalmente nos ambientes agrícolas requer esforços meticulosos, especialmente para identificar a dieta de pequenos predadores generalistas. Para facilitar essas pesquisas, vários trabalhos têm empregado ferramentas moleculares para determinar as interações tróficas de predadores por meio da análise do conteúdo do intestino. Estudos moleculares têm sido também realizados visando elucidar os mecanismos de resistência sistêmica adquirida, em que, por exemplo, uma mesma espécie de fungo não patogênica pode induzir resistência em plantas a indivíduos patogênicos da mesma espécie (Durrant; Dong, 2004), entre outros processos.

O sequenciamento de nova geração tem facilitado o conhecimento de genomas completos de inúmeras espécies. A identificação de fatores e elementos genômicos relacionados às variações morfológicas e fisiológicas observadas em artrópodes e microrganismos abre inúmeras oportunidades de inovações para o controle de pragas. A iniciativa "i5K"¹, que envolve a colaboração de diversos grupos de pesquisa em todo o mundo, merece ser mencionada. Lançada em 2011, tem o objetivo de identificar e sequenciar o genoma de 5 mil espécies de insetos de importância para a agricultura, sejam espécies pragas ou benéficas, como abelhas e outros insetos importantes para a saúde humana e animal. Conhecendo o genoma, é possível identificar transcriptomas que permitem a identificação de genes transcritos e como esses afetam as relações do organismo com as condições ambientais, estágios de vida e interações com outros organismos (Pisani et al., 2013).

O uso de ferramentas moleculares para a melhor compreensão dos mecanismos de ação, associados a estudos ecológicos, poderão auxiliar no entendimento de interações entre a praga, o inimigo natural e o meio ambiente, propiciando o desenvolvimento de produtos de controle biológico mais eficientes, mais adequados e melhor adaptados aos diferentes sistemas agrícolas.

Transcriptoma ou transcritoma

Refere-se ao conjunto completo de transcritos, ou seja, RNAs mensageiros, RNAs ribossômicos, RNAs transportadores e microRNAs, de um dado organismo, órgão ou tecido ou linhagem celular.

Genes transcritos

São copiados na forma de RNA a partir da sequência do DNA de um gene.

¹ Disponível em: <<http://arthropodgenomes.org/wiki/i5K>>.

Edição de genomas de agentes de biocontrole

Novas ferramentas moleculares estão sendo usadas para o desenvolvimento de estratégias inovadoras de controle de pragas, as quais podem influenciar o uso do controle biológico. Estudos de genoma funcional, que descrevem a função dos genes, têm por objetivo entender como os genes e a informação genética estão organizados dentro do genoma. Recentemente um método revolucionário para modificar genes a partir do conhecimento do genoma funcional tem permitido avanços na alteração de genes específicos e na compreensão das funções gênicas. A tecnologia *CluStered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats* (CRISPR, que pode ser traduzido como Grupos de Repetições Palindrômicas Curtas Regulamente Espaçadas), permite a realização de alterações específicas no DNA genômico de organismos-alvo e já vem sendo utilizada na edição de genoma de fungos agentes de controle biológico. Trabalhos recentes de Chen et al. (2017), utilizando CRISPR/Cas9 para editar o genoma do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.), via transformação de blastosporos, mostram que essa tecnologia permite avanços significativos nos estudos de genoma funcional. A tecnologia CRISPR/Cas9 foi também aplicada em um estudo com o fungo antagonista *Trichoderma reesei* E.G. Simmons, mostrando grande eficiência para introdução de deleções no genoma, principalmente de genes envolvidos no sistema celulolítico (Korppoo, 2017).

Em insetos, o uso de CRISPR/Cas9 começou a ser empregado em *Drosophila* como inseto modelo. Recentemente, essa tecnologia tem sido aplicada a diversos outros insetos como *Bombyx mori* (L.), *Aedes aegypti* (L.), *Tribolium castaneum* (Herbst), *Plutella xylostella* (L.) e *Vanessa cardui* (L.) (Gilles et al., 2015; Kistler et al., 2015; Zhang et al., 2015; Zhang; Reed, 2016; Huang et al., 2016). Uma das recentes aplicações de CRISPR/Cas9 em insetos foi estabelecida com sucesso por Li et al. (2016), que utilizaram como alvo um correceptor olfatório (*Orco*), visando estabelecer uma deficiência olfatória em gafanhotos [*Locusta migratoria* (L.)]. Os resultados mostraram que os mutantes *Orco* apresentavam uma severa alteração na resposta eletrofisiológica a múltiplos odores, o que pode contribuir para estudos genéticos da espécie visando ao manejo dessa praga.

Apesar do aumento do uso da tecnologia CRISPR/Cas9 na edição de genomas de insetos, muito ainda necessita ser feito, principalmente para o alinhamento de informações e compreensão dos impactos dos métodos utilizados para alterações dos genes-alvo e dos efeitos sobre genes não alvos. Uma revisão de Taning et al. (2017) apresenta uma discussão sobre aspectos de biossegurança na liberação de insetos com genomas editados por CRISPR/Cas9 e os efeitos no ambiente. A diversidade de insetos encontrados no planeta e as funções ecológicas das quais são protagonistas

ainda não são amplamente conhecidas, fazendo com que o uso de tecnologias para cada espécie independente necessite de uma melhor compreensão da biologia de cada espécie e suas interações no meio ambiente (Haymer, 2015).

Silenciamento de genes

O silenciamento de genes utilizando a tecnologia de RNA interferência (RNAi) vem sendo estudado na última década como uma nova ferramenta para o controle de insetos. Espécies de insetos com RNAi sistêmico e o sequenciamento de genomas e transcriptomas de insetos permitem identificação eficiente de uma grande variedade de genes-alvo para interrupção da expressão por RNAi. Uma revisão publicada por Gu e Knipple (2013) aborda os mecanismos de uso de RNAi, a variabilidade na sensibilidade de diferentes espécies, o potencial de uso de RNAi para proteção de culturas, a seletividade de RNAi e os modelos de silenciamento espécie-específica como ferramenta para o controle de insetos-pragas. Entretanto, o sucesso do uso de RNAi depende de vários fatores como o gene-alvo selecionado, o método de entrega do dsRNA, da expressão do dsRNA e dos efeitos sobre os insetos não alvo (Mamta; Rajam, 2017). Importante ressaltar que RNAi não é uma forma de eliminar a expressão gênica, mas somente uma forma de suprimir a expressão, mesmo assim, em alguns casos, a supressão é somente temporária (Lundgren; Duan, 2013).

Uma das aplicações do silenciamento de genes é na obtenção de insetos estéreis. Inicialmente foi usada a técnica da microinjeção de dsRNA (RNA dupla fita) no inseto, entretanto a aplicação dessa técnica em Sterile Insect Technology (SIT, em português significa Tecnologia de Insetos Estéreis) requer a injeção de bilhões de insetos por semana, tornando o processo de produção inviável. Segundo Whyard et al. (2015), o uso de RNAi em insetos requer o bloqueio de genes envolvidos na diferenciação sexual tornando as fêmeas pseudomachos (fêmeas com fenótipos de machos) e macho-esterilidade nos machos (tornando-os pseudomachos), produzindo uma população 100% estéril (Whyard et al., 2015). A combinação de genes-alvo para silenciamento é fundamental para causar esterilidade e, apesar de sucessos relatados na literatura, ainda são numerosas as barreiras para uso dessa técnica, incluindo a obtenção de 100% de esterilidade, a definição do tempo ideal para aplicação do dsRNA, a concentração a ser usada, o tamanho do fragmento e a persistência (Ali et al., 2017). Outro método mais recente de silenciamento de genes em

RNA interferência (RNAi)

Mecanismo celular responsável pelo silenciamento gênico que determinará o fim da vida útil do RNA mensageiro (mRNA) para que não sejam produzidas proteínas. Envolve uma molécula de dupla fita de RNA (dsRNA) que se liga a uma sequência complementar de nucleotídeos localizada no mRNA-alvo, causando o silenciamento por inibição da tradução e/ou degradação do mRNA.

insetos envolve a transformação do fungo entomopatogênico com dsRNA do inseto, sendo que o fungo entomopatogênico transgênico parece ser capaz de aumentar a mortalidade de ninfas do hospedeiro infectado pelo bloqueio do gene-alvo no inseto, carregado pelo fungo recombinante (Chen et al., 2015).

Apesar do potencial de uso de RNAi para controle de insetos, poucos estudos apresentam resultados de impacto ambiental dessa tecnologia. Mecanismos de aquisição de dsRNA por injeção de insetos ou por liberação no ambiente necessitam ser elucidados, e mesmo com empacotamento das moléculas de RNA em carreadores intermediários como bactérias, vírus ou nanopartículas, que facilitam a aquisição, os mecanismos de defesa dos insetos podem atenuar o potencial do RNAi, conforme apresentado em revisão de Darrington et al. (2017). Segundo Zotti e Smacche (2015), a falta de dados genômicos de organismos não alvo expostos aos RNAi torna difícil determinar os riscos dessa tecnologia. Estudos para elucidar os mecanismos que determinam a sensibilidade e variabilidade de insetos são também necessários para a adoção e liberação comercial de produtos baseados em RNAi.

Engenharia genética

Insetos transgênicos

Há também interesse no uso da engenharia genética para melhoria do desempenho de agentes de controle biológico. A engenharia genética consiste do uso da técnica do DNA recombinante, através da qual é possível inserir um gene selecionado de uma determinada espécie no genoma de outra espécie. Genes de uma mesma espécie podem também ser manipulados por meio dessa técnica para aumento de expressão, por exemplo. Organismos que têm seu genoma modificado pela engenharia genética são chamados de transgênicos. Agentes de controle biológico transgênicos, que incluem ácaros predadores e nematoides entomopatogênicos, foram inicialmente liberados no campo, com genes marcadores adicionados, para propósitos experimentais. Dificuldades técnicas associadas à inserção de genes em genomas nucleares de artrópodes e preocupações de segurança são dificuldades encontradas no desenvolvimento de insetos transgênicos (Hoy, 2000). Poucos avanços também foram alcançados com o melhoramento genético de nematoides entomopatogênicos (Segal; Glazer, 2000; Grewal et al., 2006).

Recentemente, a técnica tem sido aplicada na manipulação genética de insetos-praga. Por exemplo, mosquitos da espécie *A. aegypti* L. foram geneticamente modificados utilizando a estratégia de gene letal dominante que mata estágios lar-

vais (Qsim et al., 2017). Na presença de tetraciclina, o transgene não é expresso ou é expresso em níveis muito baixos, entretanto, quando liberados em campo, a maioria dos machos morre após dois dias. Como estratégia de monitoramento dos insetos transgênicos, são utilizados genes de proteínas fluorescentes que brilham em presença de luz, em determinados comprimentos de onda (Adelman et al., 2002). Essas estratégias vêm sendo utilizadas em campo, em diversos países, estando também em desenvolvimento para uso em diferentes espécies de insetos de importância agrícola como *P. xylostella*, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) e outros.

Para garantir o sucesso e a segurança no uso de insetos transgênicos, é recomendado que, desde as etapas iniciais dos estudos, sejam envolvidos geneticistas, entomologistas, ecologistas e especialistas em manejo de pragas, em esforços coordenados com agências reguladoras, para se chegar a uma aplicação segura da tecnologia (Wimmer, 2003; Andrade et al., 2016).

Microrganismos transgênicos

Fungos entomopatogênicos vêm sendo transformados utilizando-se genes associados a diferentes processos, visando principalmente compreender o processo de patogênese e as relações ecológicas entre o patógeno e o hospedeiro. Dentre inúmeros exemplos dos trabalhos recentes sobre transformação de fungos, a baixa sobrevivência de fungos entomopatogênicos, que está relacionada a fatores ambientais, como resistência à radiação ultravioleta (UV), vem sendo objeto de estudo. Linhagens transgênicas de *Metarhizium robertsii* J.F. Bischoff, Rehner & Humber e de *B. bassiana* mostraram aumento de fotorreparo e resistência à luz solar, mantendo a virulência contra o inseto-alvo (Fang; St. Leger, 2012). Recentemente, linhagem transgênica de *Metarhizium* expressando toxinas de escorpião teve sua letalidade aumentada para mosquitos resistentes a inseticida, com doses tão baixas quanto um esporo do fungo por inseto (Bilgo et al., 2017). A expressão de genes de *Bacillus thuringiensis* Berliner em fungos entomopatogênicos *Metarhizium anisopliae* e *B. bassiana* gerou fungos transgênicos com maior capacidade de matar e de reduzir o consumo de alimento, o início dos sintomas de intoxicação alimentar, o tempo da mortalidade e da infecção do inseto-alvo por ingestão (Qin et al., 2010; Wang et al., 2013; Zhang et al., 2014). Esses resultados mostram grande perspectivas de usar fungos entomopatogênicos geneticamente modificados no desenvolvimento de produtos mais eficientes e mais específicos para insetos-praga. Os mecanismos de regulação da expressão gênica vêm sendo amplamente estudados, o que poderá viabilizar o uso controlado de agentes transgênicos no controle de pragas.

Análises de risco de linhagens transgênicas de fungos agentes de biocontrole ainda são incipientes e poucas informações estão disponíveis sobre a sobrevivência de microrganismos entomopatogênicos e antagonistas na natureza, a transferência de genes entre linhagens e as interações ecológicas. Mesmo no controle biológico clássico, são raras as pesquisas que analisam o impacto e as consequências evolutivas dos agentes utilizados em grande escala no ambiente. Estudos vêm sendo conduzidos utilizando linhagens geneticamente marcadas com proteínas fluorescentes, visando elucidar e desenvolver modelos de dispersão de fungos entomopatogênicos. Wang et al. (2011) conduziram trabalhos com linhagens de *Metarhizium* spp. geneticamente modificados, mostrando que alguns genes relacionados ao estresse e à parede celular evoluem de forma acelerada, enquanto genes determinantes de virulência, transposons e estruturas de cromossomos não sofrem grandes alterações. Estudos de mecanismos e interações ecológicas são fundamentais para a compreensão das adaptações pós-liberação no ambiente.

Com relação aos agentes de controle de doenças de plantas, linhagens de *Trichoderma* vêm sendo modificadas geneticamente para melhorar o desempenho como agentes de controle biológico. Desde 2005, patentes envolvendo linhagens de *Trichoderma* protegem a tecnologia de linhagens transgênicas contendo moléculas bioativas, tanto isoladas de plantas, quanto de fungos e toxinas de *Bacillus*, além de outros fatores relacionados à virulência e à resistência (Lorito et al., 2005). Em linhagens transgênicas de *Trichoderma* expressando gene de quitinase de plantas, bactérias e insetos, mostrou-se que é possível aumentar o nível de quitinase e a atividade antifúngica contra *Fusarium verticillioides* (Sacc.) e *Rhizoctonia solani* J.G. Kün (Li et al., 2013).

Os baculovírus vêm sendo desenvolvidos para o controle de insetos-praga da agricultura desde o século 19. Nos últimos anos, baculovírus recombinantes (transformados pela engenharia genética) são amplamente estudados, principalmente quanto à expressão e à análise de funções de proteínas inseticidas. Muitas das modificações genéticas estão relacionadas à melhoria do potencial inseticida, sendo mais recentemente utilizados para expressão heteróloga de peptídeos originados de venenos de invertebrados com atividade neurotóxica, de hormônios e enzimas envolvidas na regulação do desenvolvimento e fisiologia de insetos e da expressão de toxinas de *B. thuringiensis*, dentre outras (Kroemer et al., 2015). Recentemente, baculovírus vêm sendo estudados como uma poderosa ferramenta de entrega de RNAi, permitindo seu uso no silenciamento e/ou aumento da expressão de genes de interesse para o controle de várias espécies de insetos-alvo como *B. mori*, *Helicoverpa armigera* Hübner, *Trichoplusia ni* (Hübner) e outros (Makkonen et al., 2015). O uso de baculovírus na entrega de RNAi apresenta grande potencial como ferramenta de transferência de genes com bom nível de segurança e especificidade.

De acordo com Voytas e Gao (2014), o rápido avanço tecnológico apresenta inovações importantes como opções para o controle biológico, cuja adoção depende dos aspectos regulatórios. A aplicabilidade em diferentes sistemas dependerá de dados relacionados aos processos utilizados na manipulação dos organismos, que estarão relacionados aos riscos potenciais da característica alterada e da aceitação pública. Assim, as ferramentas de manejo de pragas desenvolvidas através de ferramentas moleculares necessitam de uso apropriado e, quando possível, de combinações sinérgicas, fundamentais para a sustentabilidade na agricultura, bem como de estudos multidisciplinares visando a uma ampla avaliação do impacto nos sistemas ecológicos, principalmente as interações tritróficas dos agentes modificados (Gurr; You, 2016). Tecnologias de biologia molecular apresentam grande potencial de aplicabilidade, desde que com comprovada segurança para a saúde humana e meio ambiente. Resistência, impacto ambiental, debates econômicos, eficiência de tecnologia, análise de risco, regulamentação e políticas são importantes questões a serem analisadas para o uso futuro dessas inovações.

AVANÇOS NA PRODUÇÃO MASSAL DE AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO

A produção de bactérias é, geralmente, feita em fermentadores industriais, entretanto a produção de vírus e fungos ainda é pouco tecnificada. Em razão do crescimento do mercado de produtos biológicos para o controle de pragas, é provável que, nos próximos anos, serão feitos investimentos maciços na automação da produção de fungos por meio de fermentação bifásica. Nessa estratégia, propágulos fúngicos, sobretudo blastosporos e hifas, são inicialmente produzidos pela fermentação líquida e, em seguida, utilizados para a inoculação de grãos cozidos visando à produção de esporos aéreos (conídios). Trabalhos recentes têm também demonstrado o potencial para a produção em fermentadores líquidos de microescleródios, e de fermentação sólida para a produção de clamidósporos. Os microescleródios são pequenos agregados hifais produzidos por alguns fungos, como *Metarhizium* spp., com grande potencial no controle de pragas de solo (Jackson; Jaronski, 2009; Mascarin et al., 2014). Os clamidósporos são esporos de resistência, caracterizados por uma espessa parede celular, produzidos por alguns fungos, incluindo o fungo nematicida *Pochonia chlamydosporia* (Goddard).

A separação das unidades infectivas produzidas ainda apresenta desafios para a produção em grande escala. No caso de fungos entomopatogênicos, algumas em-

presas têm optado pela extração úmida dos conídios, a partir da produção em grãos, o que eleva o rendimento, mas afeta a qualidade dos esporos, reduzindo o seu vigor. Foi recentemente demonstrado que conídios vigorosos, caracterizados pela rápida velocidade de germinação e menor suscetibilidade ao dano de embebição (Faria et al., 2015, 2017), são os principais responsáveis pela mortalidade dos organismos-alvo. A tendência é que esses achados levem as biofábricas a optarem por protocolos para a extração a seco de conídios ou, no mínimo, por métodos de extração úmida que preservem o vigor das estruturas infectivas.

Uma estratégia promissora que visa ampliar o sabidamente restrito espectro de ação dos produtos microbianos consiste na mistura de agentes de controle biológico. Atualmente já podem ser encontrados no mercado brasileiro produtos constituídos por várias linhagens de *Trichoderma*, cada uma adaptada para uma determinada condição edafoclimática ou com ação diferenciada sobre alvos específicos. Produtos com linhagens pertencentes a diferentes espécies desse fungo antagonista, ou sua mistura com outros fungos, também têm sido comercializados. Um caso interessante é sua associação com os fungos nematocidas *Paecilomyces lilacinus* (Thom.), *Purpureocillium lilacinus* (Thom.) e *P. chlamydosporia*, com o uso de grafite na formulação. O grafite é tradicionalmente utilizado nos compartimentos de sementes das semeadoras para garantir a fluidez da vazão, e as formulações onde esse produto é misturado com conídios aéreos das três espécies são uma forma criativa de incorporação nos sulcos de plantio em lavouras anuais como soja, milho, algodão e feijão.

Outra estratégia consiste na mistura de organismos de grupos taxonômicos muito distantes, como vírus e fungos entomopatogênicos, visando aumentar o espectro de ação no controle de várias espécies de lagartas, embora as pesquisas em andamento estejam em fase inicial. Microrganismos podem ser também formulados em conjunto com nematoides entomopatogênicos ou mesmo insetos benéficos. Esse último caso é ilustrado pela estratégia denominada "entomovectoring", em que abelhas são utilizadas tanto para polinização quanto para dispersão de formulações fúngicas ou bacterianas com o intuito de controlar patógenos e insetos que atacam as flores.

O uso de armadilhas ou formulações do tipo "atrai-e-mata", que visam ao controle de insetos-praga de hábito críptico, os quais não são atingidos por pulverizações convencionais de agrotóxicos, também deverá experimentar avanços nos próximos anos. A ideia central é que insetos possam adentrar armadilhas que contenham conídios de fungos entomopatogênicos, ou entrar em contato com formulações atrativas (normalmente com a adição de feromônio) e com elevada carga de conídios, de forma que possam se contaminar e disseminar os conídios junto a outros indivíduos da população. Ensaios preliminares conduzidos por Lopes et al. (2014), no qual adultos do curculionídeo *Cosmopolites sordidus* (Germar) foram expostos a pellets

de gordura hidrogenada misturada com conídios de *B. bassiana* e do feromônio de agregação Sordidin, mostraram resultados encorajadores, que, nos próximos anos, talvez poderão ser avaliados de forma ainda mais promissora para outros binômios microrganismo/praga.

Para o uso em condições tropicais e subtropicais, há uma tendência de desenvolvimento de formulações que permitem extensão da vida de prateleira (tempo de estocagem sem queda significativa na qualidade) mais acentuada e maior tolerância à radiação UV, o que levaria a melhores níveis de controle das pragas-alvo sob condições de campo.

NANOTECNOLOGIA APLICADA AOS BIOPESTICIDAS

Nanotecnologia é uma tecnologia multidisciplinar em amplo crescimento, podendo ser considerada uma nova revolução industrial. Segundo algumas análises de mercado, a expansão comercial de produtos e aplicações de nanotecnologias devem alcançar US\$ 75,8 bilhões em 2020. No que se refere a aplicações na agricultura, a nanotecnologia apresenta grande potencial, não só no uso de fontes biológicas para síntese de nanopartículas, como também no uso para entrega de fertilizantes, elementos essenciais para melhorar o crescimento de plantas e biopesticidas (Duhan et al., 2017). O uso de nanopartículas como nanofertilizantes, nanopesticidas e nano-herbicidas contribui para a liberação controlada e em doses precisas, para uma agricultura sustentável. Uma das maiores perspectivas de aplicação de nanopartículas na agricultura é o uso em preparações de biopesticidas, promovendo a estabilização de produtos biológicos, pela proteção dos agentes e controle da liberação no ambiente (Manjunatha et al., 2016). As nanopartículas utilizadas para a liberação controlada de biopesticidas, modelos de formulações para liberação controlada (CRFs) utilizam nanoesferas, nanocápsulas, nanogéis e micelas. Nanoesferas são agregados com o composto ativo distribuído de forma homogênea na matriz polimérica, nas nanocápsulas o composto ativo é concentrado próximo ao centro, os nanogéis são hidrofílicos com alta capacidade de absorver grandes volumes de água e as micelas são agregadores formados por moléculas hidrofílicas e hidrofóbicas (Ragaei; Sabry, 2014).

Nanoencapsulamento de fungos como *Trichoderma harzianum* Rifai vem sendo estudado, visando melhorar a viabilidade e a liberação no ambiente. Diferentes ingredientes vêm sendo analisados para se avaliar os métodos de conservação, viabilidade e eficiência em campo, tendo sido observado que nanoencapsulamento e

Ca-alginato-MMT (cálcio, alginato e argila montomorilonite) apresentam resultados promissores (Adzmi et al., 2012).

Nanotecnologia vem sendo estudada também quanto ao potencial de uso para liberação de semioquímicos. Bhagat et al. (2013) utilizaram a nanogel para liberação do feromônio (metil eugenol), mostrando que o nanoproduto permite fácil manipulação, transporte sem refrigeração, redução na frequência de uso e eficiência no manejo da mosca-das-frutas [*Bactrocera dorsalis* (Hendel, 1912)]. Também apresenta a vantagem de longa duração, podendo ser utilizados em grandes períodos de cultivo de fruteiras, por exemplo (Herlekar; Ramaseshan, 2014).

A aplicação de nanopartículas para a proteção de plantas precisa ser mais bem explorada, principalmente quanto ao potencial de uso em formulações de agentes de controle biológico, tanto no que se refere à proteção dos agentes contra estresses bióticos e abióticos, quanto aos aspectos de segurança ambiental. Swamy e Asokan (2013) apresentam uma revisão sobre o uso de *B. thuringiensis* como nanopartículas para proteção de plantas, discutindo os aspectos de integração desses biopesticidas, seu uso efetivo e os benefícios para a saúde humana. Grandes oportunidades industriais em importantes segmentos poderão permitir o crescimento de novas empresas, e novos produtos contendo nanopartículas deverão alcançar os mercados nos próximos anos. No Brasil, trabalhos de pesquisa em nanotecnologia ainda estão em fase de expansão, sendo observado um crescimento de projetos de pesquisa na última década, entretanto o País ainda é considerado intermediário no desenvolvimento de nanotecnologias, necessitando de investimentos na área de controle de pragas.

USO DE DRONES PARA APLICAÇÃO DE AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO

Nos últimos anos, foram desenvolvidas máquinas denominadas *unmanned aerial vehicles* (UAVs), também conhecidas como drones. A tecnologia de drones vem sendo aplicada em inúmeras áreas da agricultura, incluindo pesquisas de desenvolvimento de plantas, inventário de culturas com estimativas de produção, planejamento agrícola e, mais recentemente, no mapeamento, manejo e controle de pragas de importância agrícola. Há uma recente revisão publicada pela Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) que mostra os avanços do uso de drones na agricultura (Sylvester, 2018).

Na última década, entomologistas têm utilizado drones para análise das áreas de ocorrência de danos causados por pragas, ou para análise da ampliação da área de ocorrência de plantas daninhas e para liberação de insetos em campos agrícolas. Os drones liberam as chamadas bombas de insetos benéficos (*bug-bombs*), agentes de biocontrole. Desde 2016, a University of Southern Denmark vem desenvolvendo os denominados ecodrones para combater pragas, liberando joaninhas, ácaros predadores e vespas parasitas para controlar uma variedade de pragas agrícolas, em parceria com diversas instituições públicas e privadas. Para atender a esse mercado emergente, empresas estão disponibilizando no mercado, além dos modelos de drones para uso na agricultura, pacotes de dados para manejo de pragas.

Um exemplo recente do potencial de uso de drones para aplicação de biopesticidas para controle de pragas foi publicado por Luciani et al. (2018). A empresa Aermatica3D, em colaboração com o Centro Ecologia Applicata Delta del Po, utilizaram drones para mapear áreas inundadas com ocorrência dos mosquitos *Aedes caspius* Pallas e *Aedes detritus* Halliday, e realizaram tratamentos com inseticidas biológicos (*B. thuringiensis*), obtendo mortalidades de 80% a 100% de mosquitos.

Entretanto o uso de drones ainda apresenta grandes desafios, como a autonomia de voo e resolução dos drones, ajustes de voos (velocidade, altura e peso), controle de doses e formulações, bem como sistemas de planejamento de voos com definição de área precisa de liberação dos produtos. O futuro uso de drones na agricultura depende do aumento da capacidade de uso de sistemas inteligentes, necessitando de refinamentos quanto às imagens produzidas e ao potencial de uso em grandes áreas de cultivo (Greenwood, 2016). A facilidade de uso em áreas de difícil acesso, como áreas de inundação, que necessitam de veículos especiais, seria uma das grandes vantagens dos drones. Aspectos legais sobre o uso dessa tecnologia estão sendo discutidos e implementados em diferentes países, com regulamentações específicas.

DESAFIOS E PERSPECTIVAS

A Organização Internacional para o Controle Biológico e Integrado (IOBC) reuniu recentemente profissionais e pesquisadores de áreas diversas para identificar as principais limitações para a aceitação de biocontrole e recomendar meios de mitigação (Barratt et al., 2018). Foram identificadas limitações quanto aos processos regulatórios nem sempre adequados, inúmeras barreiras para o acesso aos agentes de controle biológico, falta de adequada comunicação com os vários setores inte-

ressados sobre os benefícios do controle biológico e a fragmentação das ações de incentivo voltadas para o tema. Enquanto a pesquisa e o desenvolvimento tecnológico precisam avançar, é fundamental que esses gargalos sejam resolvidos para que o controle biológico floresça e seja mais amplamente aplicado nas propriedades agrícolas. Para tanto é fundamental o envolvimento de diferentes atores, desde o pesquisador e o extensionista, até a indústria e governos, este último atuando em políticas públicas de desenvolvimento e incentivo. Há um consenso entre consumidores de que o modelo agrícola baseado no uso intensivo e quase que exclusivo de pesticidas químicos é insustentável. A disponibilização de agentes de controle biológico vem crescendo recentemente e tende a aumentar, mas os desafios impostos à pesquisa, disponibilização e aceitação do controle biológico de praga como o primeiro método a ser adotado pelos agricultores, sempre que exista essa opção, precisam ser enfrentados, buscando soluções práticas e de amplo alcance.

REFERÊNCIAS

- ADELMAN, Z. N.; JASINSKIENE, N.; JAMES, A. A. Development and applications of transgenesis in the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 121, n. 1, p. 1-10, Apr. 2002. DOI: 10.1016/S0166-6851(02)00028-2.
- ADZMI, F.; MEON, S.; MUSA, M. H.; YUSUF, N. A. Preparation, characterization and viability of encapsulated *Trichoderma harzianum* UPM40 in alginate-montmorillonite clay. **Journal of Microencapsulation**, v. 29, n. 3, p. 205-210, 2012. DOI: 10.3109/02652048.2012.659286.
- ALI, M. W.; ZHENG, W.; SOHAIL, S.; LI, Q.; ZHENG, W.; ZHANG, H. A genetically enhanced sterile insect technique against the fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) by feeding adult double-stranded RNAs. **Nature Scientific Reports**, v. 7, article number: 4063, 2017. DOI: 10.1038/s41598-017-04431-z.
- ANDRADE, P. P. de; ARAGÃO, F. J. L.; COLLI, W.; DELLAGOSTIN, O. A.; FINARDI-FILHO, F.; HIRATA, M. H.; LIRA-NETO, A. de C.; MELO, M. A. de; NEPOMUCENO, A. L.; NÓBREGA, F. G. da; SOUSA, G. D. de; VALICENTE, F. H.; ZANETTINI, M. H. B. Use of transgenic *Aedes aegypti* in Brazil: risk perception and assessment. **Bull World Health Organ**, v. 94, n. 10, p. 766-771, Oct 2016. DOI: 10.2471/BLT.16.173377.
- BARRATT, B. I. P.; MORAN, V. C.; BIGLER, F.; LENTEREN, J. C. van. The status of biological control and recommendations for improving uptake for the future. **BioControl**, v. 63, n. 1, p. 155-167, Feb. 2018. DOI: 10.1007/s10526-017-9831-y.
- BHAGAT, D.; SAMANTA, S. K.; BHATTACHARYA, S. Efficient management of fruit pests by pheromone nanogels. **Scientific Reports**, v. 3, p. 1-8, 2013. DOI: 10.1038/srep01294.
- BILGO, E.; LOVETT, B.; FANG, W.; BENDE, N.; KING, G. F.; DIABATE, A.; ST. LEGER, R. J. Improved efficacy of an arthropod toxin expressing fungus against insecticide-resistant malaria-vector mosquitoes. **Scientific Reports**, v. 7, article number 3433, 2017. DOI: 10.1038/s41598-017-03399-0.
- BRASIL Food Trends 2020. São Paulo: FIESP: ITAL, 2010. 176 p. Disponível em: <http://www.brasilfoodtrends.com.br/Brasil_Food_Trends/index.html>. Acesso em: 20 nov. 2017.

BRASIL. Decreto nº 7.794, de 20 de agosto de 2012. Institui a Política Nacional de Agroecologia e Produção Orgânica. **Diário Oficial da União**, 21 ago. 2012. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2011-2014/2012/Decreto/D7794.htm>. Acesso em: 20 nov. 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 17, de 18 de junho de 2014. Altera os arts. 1º 2º 3º 8º 13, 14, 15, 20, 21, 29, 34, 35, 38, 39, 42, 59, 60, 63, 80, 81, 82, 85, 89, 100, 101, 103, 106, 108, todos da Instrução Normativa nº 46, de 6 de outubro de 2011. **Diário Oficial da União**, 20 jun. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 46, de 6 de outubro de 2011. Estabelece o Regulamento Técnico para os Sistemas Orgânicos de Produção, bem como as listas de substâncias e práticas permitidas para uso nos Sistemas Orgânicos de Produção. **Diário Oficial da União**, 7 out. 2011.

BRASIL. **Projeto de Lei do Senado nº 679, de 2011**. Altera a Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, para instituir a Política Nacional de Apoio ao Agrotóxico Natural. 2011. Disponível em: <<https://www25.senado.leg.br/web/atividade/materias/-/materia/103225>>. Acesso em: 20 nov. 2017.

CHATTOPADHYAY, P.; BANERJEE, G.; MUKHERJEE, S. Recent trends of modern bacterial insecticides for pest control practice in integrated crop management system. **Biotech**, v. 7, May 2017. DOI: 10.1007/s13205-017-0717-6.

CHEN, J.; LAI, Y.; WANG, L.; ZHAI, S.; ZOU, G.; ZHOU, Z.; CUI, C.; WANG, S. CRISPR/Cas9-mediated efficient genome editing via blastospore-based transformation in entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. **Nature Scientific Reports**, v. 8, article number: 45763, 2017. DOI: 10.1038/srep45763.

CHEN, X.; LI, L.; HU, Q.; ZHANG, B.; WU, W.; JIN, F.; JIANG, J. Expression of dsRNA in recombinant *Isaria fumosorosea* strain targets the *TLR7* gene in *Bemisia tabaci*. **BMC Biotechnology**, v. 15, article number: 64, 2015. DOI: 10.1186/s12896-015-0170-8.

DARRINGTON, M.; DALMAY, T.; MORRISON, N. I.; CHAPMAN, T. Implementing the sterile insect technique with RNA interference – a review. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 164, n. 3, p. 155-175, Sept. 2017. DOI: 10.1111/eea.12575.

DUHAN, J. S.; KUMAR, R.; KUMAR, N.; KAUR, P.; NEHRA, K.; DUHAN, S. Nanotechnology: the new perspective in precision agriculture. **Biotechnology Reports**, v. 15, p. 11-23, Sept. 2017. DOI: 10.1016/j.btre.2017.03.002.

DURRANT, W. E.; DONG, X. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v. 42, p. 185-209, 2004. DOI: 10.1146/annurev.phyto.42.040803.140421.

FANG, W.; ST. LEGER, R. J. Enhanced UV resistance and improved killing of malaria mosquitoes by photolyase transgenic entomopathogenic fungi. **PLOS One**, v. 7, n. 8, e43069, 2012. DOI: 10.1371/journal.pone.0043069.

FARIA, M.; LOPES, R. B.; SOUZA, D. A.; WRAIGHT, S. P. Conidial vigor vs. viability as predictors of virulence of entomopathogenic fungi. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 125, p. 68-72, Feb. 2015. DOI: 10.1016/j.jip.2014.12.012.

FARIA, M.; MARTINS, I.; SOUZA, D. A.; MASCARIN, G. M.; LOPES, R. B. Susceptibility of the biocontrol fungi *Metarhizium anisopliae* and *Trichoderma asperellum* (Ascomycota: Hypocreales) to imbibitional damage is driven by conidial vigor. **Biological Control**, v. 107, p. 87-94, 2017. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2017.01.015.

GILLES, A. F.; SCHINKO, J. B.; AVEROF, M. Efficient CRISPR-mediated gene targeting and transgene replacement in the beetle *Tribolium castaneum*. **Development**, v. 142, p. 2832-2839, 2015. DOI: 10.1242/dev.125054.

GREENWOOD, F. **Drones on the horizon**: new frontier in agricultural innovation. Drones for agriculture. 2016. Disponível em: <<https://ictupdate.cta.int/en/article/drones-on-the-horizon-new-frontier-in-agricultural-innovation-sid01f001686-6d37-4c12-ab6b-69cc0fc09f21>>. Acesso em: 20 nov. 2017.

GREWAL, P. S.; BORNSTEIN-FORST, S.; BURNELL, A. M.; GLAZER, I.; JAGDALE, G. B. Physiological, genetic, and molecular mechanisms of chemoreception, thermobiosis, and anhydrobiosis in entomopathogenic nematodes. **Biological Control**, v. 38, n. 1, p. 54-65, July 2006. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2005.09.004.

GU, L.; KNIPPLE, D. C. Recent advances in RNA interference research in insects: implications for future insect pest management strategies. **Crop Protection**, v. 45, p. 36-40, Mar. 2013. DOI: 10.1016/j.cropro.2012.10.004.

GURR, G. M.; YOU, M. Conservation biological control of pests in the molecular era: new opportunities to address old constraints. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, article number 1255, Jan. 2016. DOI: 10.3389/fpls.2015.01255.

HAYMER, D. Genetics and insect pest management in agriculture. **CAB Reviews**, v. 10, article number 049, 2015. DOI: 10.1079/PAVSNNR201510049.

HERLEKAR, I.; RAMASESHAN, S. Using nanotechnology to control pests: trapping fruit using pheromone gels. **Current Science**, v. 106, n. 1, p. 14-15, Jan. 2014.

HODDLE, M. S. Biological control of vertebrates. In: BELLOWS, T. S.; FISHER, T. W. (Ed.). **Handbook of biological control**: principles and applications of biological control. San Diego: Academic Press, 1999. p. 955-974. DOI: 10.1016/B978-012257305-7/50085-0.

HOY, M. A. Transgenic arthropods for pest management programs: risks and realities. **Experimental and Applied Acarology**, v. 24, n. 5-6, p. 463-495, May 2000. DOI: 10.1023/A:1006401225083.

HUANG, Y.; CHEN, Y.; ZENG, B.; WANG, Y.; JAMES, A. A.; GURR, G. M.; YANG, G.; LIN, X.; HUANG, Y.; YOU, M. CRISPR/Cas9 mediated knockout of the *abdominal-A* homeotic gene in the global pest, diamondback moth (*Plutella xylostella*). **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 75, p. 98-106, Aug. 2016. DOI: 10.1016/j.ibmb.2016.06.004.

JACKSON, M. A.; JARONSKI, S. T. Production of microsclerotia of the fungal entomopathogen *Metarhizium anisopliae* and their potential for use as a biocontrol agent for soil-inhabiting insects. **Mycological Research**, v. 113, n. 8, p. 842-850, Aug. 2009. DOI: 10.1016/j.mycres.2009.03.004.

KISTLER, K. E.; VOSSHALL, L. B.; MATTHEWS, B. J. Genome engineering with CRISPR-Cas9 in the mosquito *Aedes aegypti*. **Cell Reports**, v. 11, n. 1, p. 51-60, Apr. 2015. DOI: 10.1016/j.celrep.2015.03.009.

KORPPOO, A. **Development of the CRISPR/Cas9 method for use in *T. reesei***. 2017. 88 f. Thesis (Master in Biotechnology) – Faculty of Biological and Environmental Science, University of Helsinki, Helsinki, Finland.

KROEMER, J. A.; BONING, B. C.; HARRISON, R. L. Expression, delivery and function of insecticidal proteins expressed by recombinant baculovirus. **Viruses**, v. 7, n. 1, p. 422-455, 2015. DOI: 10.3390/v7010422.

LI, Y.; FU, K.; GAO, S.; WU, Q.; FAN, L.; LI, Y.; CHEN, J. Increased virulence of transgenic *Trichoderma koningi* strains to the Asian corn borer larvae by overexpressing heterologous chitinase gene with chitin-binding domains. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 48, n. 5, p. 376-383, 2013. DOI: 10.1080/03601234.2013.742386.

LI, Y.; ZHANG, J.; CHEN, D.; YANG, P.; JIANG, F.; WANG, X.; KANG, L. CRISPR/Cas9 in locusts: successful establishment of an olfactory deficiency line by targeting the mutagenesis of an odorant receptor co-receptor (Orco). **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 79, p. 27-35, Dec. 2016. DOI: 10.1016/j.ibmb.2016.10.003.

- LOPES, R. B.; LAUMANN, R. A.; MOORE, D.; OLIVEIRA, M. W. M.; FARIA, M. Combination of the fungus *Beauveria bassiana* and pheromone in an attract-and-kill strategy against the banana weevil, *Cosmopolites sordidus*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 151, n. 1, p. 75-85, Apr. 2014. DOI: 10.1111/eea.12171.
- LORITO, M.; MACH, R. L.; ZEILINGER, S.; WOO, S. L. **Transgenic strains of trichoderma and their use in biocontrol**. Int. WO2006036678 A3. U. S. n. 2005/033762, 21 Sept. 2005.
- LUCIANI, E.; GUIDI, D.; ALBIERI, A.; VERONESI, R.; BELLINI, R.; MARRAS, P. Evaluation of larvicide treatments by drone against mosquitoes in wetland and agricultural areas of Po river Delta, Italy. In: EUROPEAN SOVE CONFERENCE, 21., 2018, Palermo. [**Proceedings...** S.l.: s.n., 2018].
- LUNDGREN, J. G.; DUAN, J. J. RNAi-based insecticidal crops: potential effects on nontarget species. **BioScience**, v. 63, n. 8, p. 657-665, Aug. 2013. DOI: 10.1525/bio.2013.63.8.8.
- MAKKONEN, K.-E.; AIRENNE, K.; YLÄ-HERTTULALA, S. Baculovirus-mediated gene delivery and RNAi applications. **Viruses**, v. 7, n. 4, p. 2099-2125, 2015. DOI: 10.3390/v7042099.
- MAMTA, B.; RAJAM, M. V. RNAi technology: a new platform for crop pest control. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 23, n. 3, p. 487-501, July 2017. DOI: 10.1007/s12298-017-0443-x.
- MANJUNATHA, S. B.; BIRADAR, D. P.; ALADAKATTI, Y. R. Nanotechnology and its applications in agriculture: a review. **Journal of Farm Science**, v. 29, n. 1, p. 1-13, 2016.
- MASCARIN, G. M.; KOBORI, N. N.; VITAL, R. C. de J.; JACKSON, M. A.; QUINTELA, E. D. Production of microsclerotia by Brazilian strains of *Metarhizium* spp. using submerged liquid culture fermentation. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 30, n. 5, p. 1583-1590, May 2014. DOI: 10.1007/s11274-013-1581-0.
- OLIVEIRA, C. M.; AUAD, A. M.; MENDES, S. M.; FRIZZAS, M. R. Crop losses and the economic impact of insect pests on Brazilian agriculture. **Crop Protection**, v. 56, p. 50-54, Feb. 2014. DOI: 10.1016/j.cropro.2013.10.022.
- PISANI, D.; CARTON, R.; CAMPBELL, L. I.; AKANNI, W. A.; MULVILLE, E.; ROTA-STABELLI, O. An overview of arthropod genomics, mitogenomics, and the evolutionary origins of the arthropod proteome. In: MINELLI, A.; BOXSHALL, G.; FUSCO, G. (Ed.). **Arthropod biology and evolution**. Springer, 2013. p. 41-61. eBook. DOI: 10.1007/978-3-642-36160-9_3.
- QIN, Y.; YING, S.-H.; CHEN, Y.; SHEN, Z.-C.; FENG, M.-G. Integration of insecticidal protein Vip3Aa1 into *Beauveria bassiana* enhances fungal virulence to *Spodoptera litura* larvae by cuticle and *per os* infection. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 76, n. 14, p. 4611-4618, July 2010. DOI: 10.1128/AEM.00302-10.
- QSIM, M.; ASHFAQ, U. A.; YOUSAF, M. Z.; MASOUD, M. S.; RASUL, I.; NOOR, N.; HUSSAIN, A. Genetically modified *Aedes aegypti* to control dengue: a review. **Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression**, v. 27, n. 4, p. 331-340, 2017. DOI: 10.1615/CritRevEukaryotGeneExpr.2017019937.
- RAGAEI, M.; SABRY, A.-K. H. Nanotechnology for insect pest control. **International Journal of Science, Environment and Technology**, v. 3, n. 2, p. 528-545, 2014.
- SEGAL, D.; GLAZER, I. Genetics for improving biological control agents: the case of entomopathogenic nematodes. **Crop Protection**, v. 19, n. 8-10, p. 685-689, Sept. 2000. DOI: 10.1016/S0261-2194(00)00091-0.
- SWAMY, H. M. M.; ASOKAN, R. *Bacillus thuringiensis* as 'nanoparticles' – a perspective for crop protection. **Nanoscience and Nanotechnology**, v. 3, n. 1, p. 102-105, 2013. DOI: 10.2174/22106812112029990006.
- SYLVESTER, G. **E-agriculture in action: drones for agriculture**. Bangkok: Food and Agriculture Organization of the United Nations: International Telecommunication Union, 2018. 112 p.

TANING, C. N. T.; EYNDE, B. V.; YU, N.; MA, S.; SMAGGHE, G. CRISPR/Cas9 in insects: applications, best practices and biosafety concerns. **Journal of Insect Physiology**, v. 98, p. 245-257, Apr. 2017.

DOI: 10.1016/j.jinsphys.2017.01.007.

VAN DRIESCHE, R. G.; CARRUTHERS, R. I.; CENTER, T.; HODDLE, M. S.; HOUGH-GOLDSTEIN, J.; MORIN, L.; SMITH, L.; WAGNER, D. L.; BLOSSEY B.; BRANCATINI V.; CASAGRANDE R.; CAUSTON C. E.; COETZEE J. A.; CUDA J.; DING J.; FOWLER S. V.; FRANK J. H.; FUESTER R.; GOOLSBY J.; GRODOWITZ M.; HEARD, T. A.; HILL, M. P.; HOFFMANN, J. H.; HUBER, J.; JULIEN, M.; KAIRO, M. T. K.; KENIS, M.; MASON, P.; MEDAL, J.; MESSING, R.; MILLER, R.; MOORE, A.; NEUENSCHWANDER, P.; NEWMAN, R.; NORAMBUEN, H.; PALMER, W. A.; PEMBERTON, R.; PEREZ PANDURO, A.; PRATT, P. D.; RAYAMAJHI, M.; SALOM, S.; SANDS, D.; SCHOOLER, S.; SCHWARZLÄNDER, M.; SHEPPARD, A.; SHAW, R.; TIPPING, P. W.; KLINKEN, R. D. van. Classical biological control for the protection of natural ecosystems. **Biological Control**, v. 54, p. S2-S33, Aug. 2010. Supplement 1. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2010.03.003.

VOYTAS, D. F.; GAO, C. Precision genome engineering and agriculture: opportunities and regulatory challenges. **PLoS Biology**, v. 12, e1001877, June 2014. DOI: 10.1371/journal.pbio.1001877.

WANG, S.; O'BRIEN, T. R.; PAVA-RIPOLL, M.; ST. LEGER, R. J. Local adaptation of an introduced transgenic insect fungal pathogen due to new beneficial mutations. **Proceedings of the National Academy of Science**, v. 108, n. 5, p. 20449-20454, Dec. 2011. DOI: 10.1073/pnas.1113824108.

WANG, Z.-L.; YING, S.-H.; FENG, M.-G. Recognition of a core fragment of *Beauveria bassiana* hydrophobin gene promoter (*Phyd1*) and its special use in improving fungal biocontrol potential. **Microbial Biotechnology**, v. 6, n. 1, p. 27-35, 2013. DOI: 10.1111/j.1751-7915.2012.00351.x.

WHYARD, S.; ERDELYAN, C. N. G.; PARTRIDGE, A. L.; SINGH, A. D.; BEEBE, N. W.; CAPINA, R. Silencing the buzz: a new approach to population suppression of mosquitoes by feeding larvae double-stranded RNAs. **Parasites and Vectors**, v. 8, article number: 96, 2015. DOI: 10.1186/s13071-015-0716-6.

WIMMER, E. A. Applications of insect transgenesis. **Nature Reviews Genetics**, v. 4, p. 225-232, 2003. DOI: 10.1038/nrg1021.

ZHANG, L.; REED, R. D. Genome editing in butterflies reveals that *spalt* promotes and *Distal-less* represses eyespot colour patterns. **Nature Communications**, v. 7, article number 11769, 2016. DOI: 10.1038/ncomms11769.

ZHANG, L.; YING, H. S.; FENG, M. G. Assessment of oral virulence against *Spodoptera litura*, acquired by a previously non-pathogenic *Metarhizium anisopliae* isolate, following integration of a midgut-specific insecticidal toxin. **Biological Control**, v. 79, p. 8-15, Dec. 2014. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2014.08.001.

ZHANG, Z.; ASLAM, A. F.; LIU, X.; LI, M.; HUANG, Y.; TAN, A. Functional analysis of *Bombyx Wnt1* during embryogenesis using the CRISPR/Cas9 system. **Journal of Insect Physiology**, v. 79, p. 73-79, Aug. 2015. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2015.06.004.

ZOTTI, M. J.; SMAGGHE, G. RNAi technology for insect management and protection of beneficial insects from diseases: lessons, challenges and risk assessments. **Neotropical Entomology**, v. 44, n. 3, p. 197-213, June 2015. DOI: 10.1007/s13744-015-0291-8.

CAPÍTULO 16

Mercado de agentes de controle biológico

Rafael Vivian
Ranyse Barbosa Querino

Nos próximos anos, os desafios da agricultura serão crescentes e potencializados pela escassez de área agricultável e pela grande concentração da população urbana. Na maior parte das regiões do mundo, poucas pessoas viverão da agricultura, e menos ainda serão agricultores. Também haverá a necessidade de desenvolver novas tecnologias que extraiam mais de uma porção menor de área, utilizando menos mão de obra. Juntamente ao processo de concentração e especialização agrícola, uma das grandes tendências, a qual interfere diretamente nos sistemas produtivos, é a maior exigência do consumidor pela qualidade dos alimentos.

Uma pesquisa nacional realizada pela Federação das Indústrias do Estado de São Paulo (Fiesp) indicou o perfil de consumo de alimentos no Brasil e suas tendências para 2020. Uma das tendências identificadas foi a preferência do consumidor por produtos naturais, sem químicos, mais seguros e de qualidade atestada, cuja produção agrida menos o ambiente e tenha menos pegada de carbono (Brasil Food Trends 2020, 2010). A partir das novas tendências globais, o incentivo pelo desenvolvimento de produtos de base biológica para a agricultura tem movimentado iniciativas de pequenas, médias e grandes empresas. Além de reduzir os custos, quando comparado aos químicos, estimado entre 20% e 70% a menos, os biológicos contribuem para a manutenção da diversidade, com alta seletividade e baixa toxicidade para o ser humano. Por esses e outros fatores, os produtos para o controle biológico ampliam, a cada ano, sua participação no mercado, que hoje disponibiliza diversas soluções para redução de perdas e incremento produtivo.

CARACTERÍSTICAS DO MERCADO DE INSUMOS TECNOLÓGICOS

O segmento de fornecedores de insumos tecnológicos ao mercado agropecuário engloba três principais categorias: mecânica, química e biológica. Ao longo da cadeia, tanto a distribuição, o armazenamento e o processamento incorporam diversas tecnologias. Porém, é na produção que estão as principais demandas e nela que ocorrem as grandes inovações. Na cadeia de biológicos – mercado com diversas soluções para redução de perdas e incremento produtivo –, o uso de tecnologias inovadoras é crescente e organizado conceitualmente de acordo com o tipo, o organismo-alvo, o cultivo e a região geográfica, conforme a Figura 1.

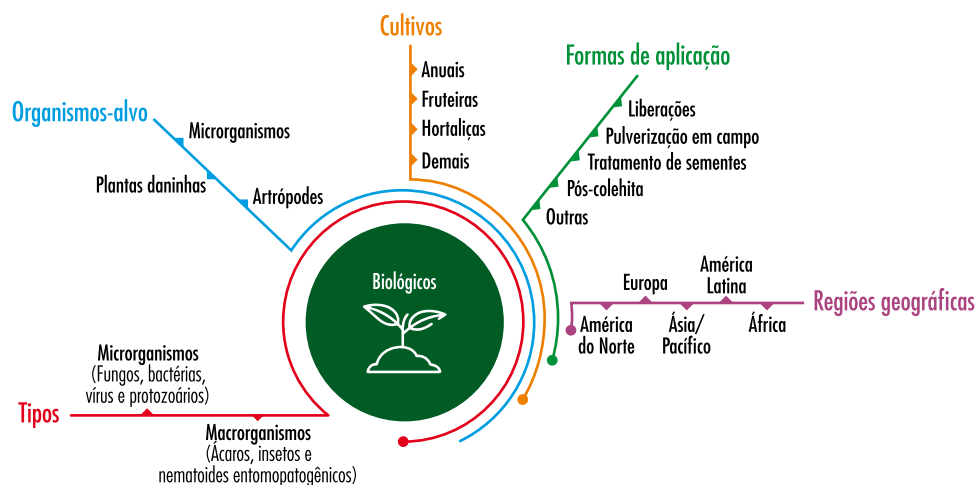


Figura 1. Organização do mercado de produtos biológicos para uso agrícola, considerando diferentes tipos de microrganismos, organismos-alvo, cultivos, formas de aplicação e regiões geográficas.

Esse mercado está concentrado principalmente em países desenvolvidos localizados na América do Norte e Europa Ocidental, onde se localizam mais de 80% das empresas que atuam globalmente nesse segmento e que detêm cerca de 67% do mercado. Embora divergentes em termos de estatística mundial, por incluir diferentes segmentos, o mercado global de biológicos para uso agrícola representa atualmente US\$ 6,2 bilhões, do qual fazem parte os biofertilizantes, bioestimulantes e os biopesticidas (DunhamTrimmer, 2017).

É no mercado de biopesticidas agrícolas que estão as principais tendências de crescimento e os maiores valor e volume de produtos. Como alternativa para os pesticidas químicos, o mercado global de biopesticidas alcançou US\$ 3,4 bilhões em

2016, com estimativas de chegar a US\$ 7,63 bilhões até 2022 (Research and Markets, 2016). Dentre esses, os indicadores apontam para uma redução no uso de bioquímicos e macrorganismos nos próximos 3 anos, com intensificação no mercado de microrganismos, em especial para os nematicidas (taxa de crescimento anual de 20%). O mercado de microrganismos para uso agrícola deverá alcançar 60% do mercado total de biológicos e se consolidará, nos próximos 5 anos, como o principal segmento.

A crescente mudança nas técnicas agrícolas para orgânicos, o aumento dos riscos ambientais ocasionados por produtos químicos convencionais, aliados ao crescimento constante da população e dos custos elevados dos pesticidas agrícolas, são alguns dos fatores que explicam o aumento na demanda por biológicos, com tendência crescente no mercado agrícola.

As projeções globais para o mercado de biológicos apontam para um crescimento anual de 12,7% até 2022, estimado em US\$ 11,35 bilhões. Para 2025, a taxa composta de crescimento anual do mercado é superior a 16%, impulsionada principalmente pela alta na demanda dos mercados latino-americano e asiáticos. Mesmo assim, é nos países desenvolvidos localizados na América do Norte e Europa Ocidental que se concentram 66% desse mercado, com mais de 80% das empresas de desenvolvimento tecnológico para biocontrole do mundo (DunhamTrimmer, 2017).

Na América Latina, esse mercado ganha cada vez mais espaço, principalmente pela adoção de novas práticas de conservação ambiental, como o manejo integrado de pragas, que utiliza uma combinação de controle biológico e de pesticidas convencionais. O Brasil, o México e a Argentina são os mercados que mais crescem na região, sendo potenciais demandantes para fornecedores globais. As projeções para a América Latina possuem os melhores cenários, estimando uma taxa anual de crescimento de 18% ao longo de 10 anos de projeção, 2015 a 2025 (DunhamTrimmer, 2017). Em 2015, o mercado de biológicos na América Latina foi avaliado em US\$ 423,7 milhões, segundo a Research and Markets (2016b). Caso as estimativas sejam confirmadas, o mercado de biológicos na América Latina alcançará um crescimento de quase 250%, em apenas 5 anos, 2016 a 2021, ultrapassando, até o ano 2025, o continente asiático, como região com maior participação no mercado.

Outros dados também indicados pela DunhamTrimmer (2017) apontam que os três segmentos de produtos biológicos (microbiológicos, macrobiológicos e bioquímicos) crescem muito mais rapidamente que o mercado tradicional de proteção dos cultivos. A tendência no mercado internacional é que os produtos microbianos crescem mais rápido à medida que pequenas e grandes empresas investem na descoberta e desenvolvimento, e eles continuarão a representar quase 60% do mercado até 2025. De forma geral, o mercado brasileiro apresenta essa mesma tendência.

MERCADO DE AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO NO BRASIL

No Brasil, as estimativas da Associação Brasileira das Empresas de Controle Biológico (ABCBio) são promissoras, com um crescimento anual previsto entre 15% e 20% no mercado para os próximos anos. No País, os produtos biológicos correspondem entre 1% e 2% dos US\$ 9,6 bilhões do mercado de químicos agrícolas. Embora com apenas 10 anos, a ABCBio conta hoje com 24 empresas fabricantes e distribuidores de produtos biológicos – de agentes predadores, parasitoides, fungos, bactérias e nematoides de qualidade, inovadores –, contribuindo significativamente para o controle de pragas na agricultura brasileira. Essas empresas já disponibilizam 118 produtos comerciais, em sua maioria (70%), microbiológicos (Associação Brasileira das Empresas de Controle Biológico, 2017). Somente em 2015, mais de 20 novos registros foram obtidos (Figura 2) (Brasil, 2018). Comparativamente, de 2010 a 2016, a proporção de produtos biológicos registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) para uso na agricultura brasileira saltou de 7% para 60% em relação aos produtos químicos (Mittmann, 2017).

O mercado brasileiro dispõe de uma série de agentes biológicos, como *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1915), *Beauveria bassiana* (Bals. Criv.) Vuill. 1912,

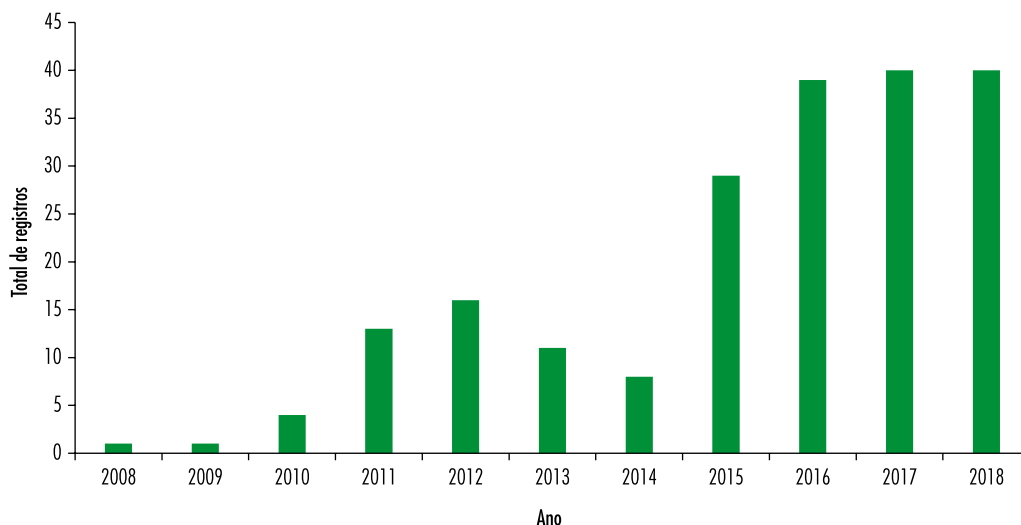


Figura 2. Quantidade de produtos de biológicos registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) no período de 2008 a 2018.

Fonte: Brasil (2018).

Cotesia flavipes (Cameron, 1891), *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin, *Neoseiulus californicus* (McGregor, 1954), *Orius insidiosus* (Say, 1832), *Pasteuria nishizawae* Sayre et al. 1992 emend. Noel et al. 2005, *Phytoseiulus macropilis* (Banks, 1905), *Trichoderma asperellum* (Samuels, Lieckf. & Nirenberg., 1999), *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988, *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879, entre outros, os quais são registrados por organismo-alvo de controle, sem restrição de cultivo agrícola.

Um dos programas de controle biológico mais eficiente do Brasil, que está entre os melhores do mundo, é conduzido para controlar as principais pragas da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* e *Mahanarva fimbriolata*. Para controlar *D. saccharalis*, 3,3 milhões de hectares estão sendo tratados com *C. flavipes*. Em 2010, o *T. galloi* também foi usado em 500 mil hectares de cana-de-açúcar para controlar os ovos da broca-da-cana. *Mahanarva fimbriolata* é controlada com o fungo *M. anisopliae*, cobrindo uma área de 2 milhões de hectares (Parra, 2014). Na safra 2013/2014, espécies de *Trichogramma* foram lançadas em cerca de 750 mil hectares, demonstrando que se tornaram uma importante estratégia para o controle de pragas como parte dos programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP) no País (Parra et al., 2015).

As culturas de maior expressão que utilizam o controle biológico no Brasil são a soja (*Glycine max*) e a cana-de-açúcar (*Saccharum* sp.), em geral, com predominância de bioprodutos com ação inseticida, fungicida e nematicida. Por exemplo, o *Bacillus thuringiensis*, *M. anisopliae* e *C. flavipes*.

Ainda assim, o uso de agentes de controle biológico na agricultura brasileira ainda é pouco divulgado, e o seu monitoramento pouco efetivo para gerar bases de dados confiáveis que ilustrem a sua expansão agrícola. Importante observar que, com o aumento na produção brasileira de grãos, estimada em 356 milhões de toneladas em 2021, o uso crescente de pesticidas contribui para o aumento no uso de biopesticidas, porém com uma taxa média de crescimento anual maior em relação aos pesticidas químicos, estimada em 17%. Destaca-se que, em um universo de US\$ 6 bilhões anuais desembolsados pelos produtores em inseticidas e fungicidas (os segmentos que têm biológicos), apenas US\$ 90 milhões referem-se a defensivos biológicos (Mittmann, 2017).

Caso as projeções se confirmem, o mercado brasileiro de biológicos alcançará valor superior a US\$ 492 milhões em 2021, cerca de 3% do total do mercado de defensivos agrícolas no País (Figura 3). Embora represente pouco, se considerarmos 1% do mercado atual de pesticidas, o segmento de biológicos poderá triplicar em apenas 4 anos.

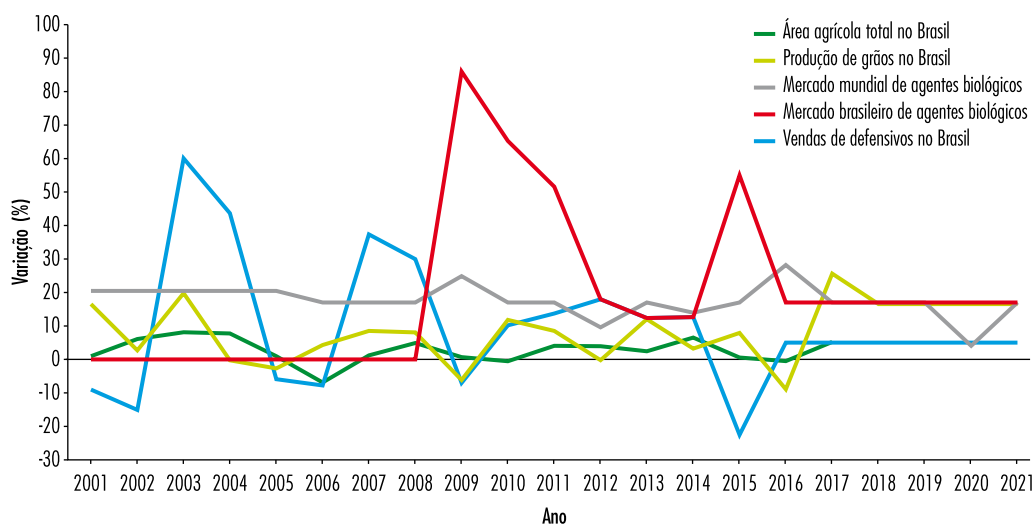


Figura 3. Variação da área agrícola e do mercado de pesticidas e segmento de agentes biológicos no Brasil e no mundo, no período de 2001 a 2017, e estimativa de crescimento, de 2018 a 2021.

Fonte: Adaptado de Associação Brasileira das Indústrias de Química Fina, Biotecnologia e suas Especialidades (2017), Associação Brasileira dos Defensivos Genéricos (2017), Companhia Nacional de Abastecimento (2017), DunhamTrimmer (2017), FAO (2017a, 2017b), IBGE (2017), Markets and Markets (2018).

DESAFIOS E PERSPECTIVAS

Diante dos problemas existentes no setor de pesticidas agrícolas, o segmento de biológicos também enfrenta dificuldades no seu avanço e consolidação no mercado. Muitos dos fatores estão relacionados às perspectivas do usuário, o agricultor. Os resultados obtidos no controle e eficácia para os demais pesticidas geralmente são elevados, acima de 85%, conforme padrões estabelecidos pelas grandes empresas desenvolvedoras desses produtos, enquanto, para os biológicos, os percentuais são sempre menores.

Outros fatores são inerentes às práticas e detalhamento no uso dos biológicos, os quais apresentam maior complexidade técnica e dificuldade de manuseio, em especial para países em desenvolvimento que fazem pouco uso desses pesticidas. Ainda consideram-se críticas às condições de transporte e armazenamento, principalmente para macrorganismos e formulados líquidos de microrganismos. A viabilidade de embalagens inteligentes para a distribuição e liberação de biológicos, por exemplo, é etapa essencial no desenvolvimento de novos produtos.

Ao longo da cadeia produtiva brasileira de biológicos (Figura 4), verificam-se outros fatores que contribuem para a baixa taxa de adoção de biológicos, os quais destacam-se:

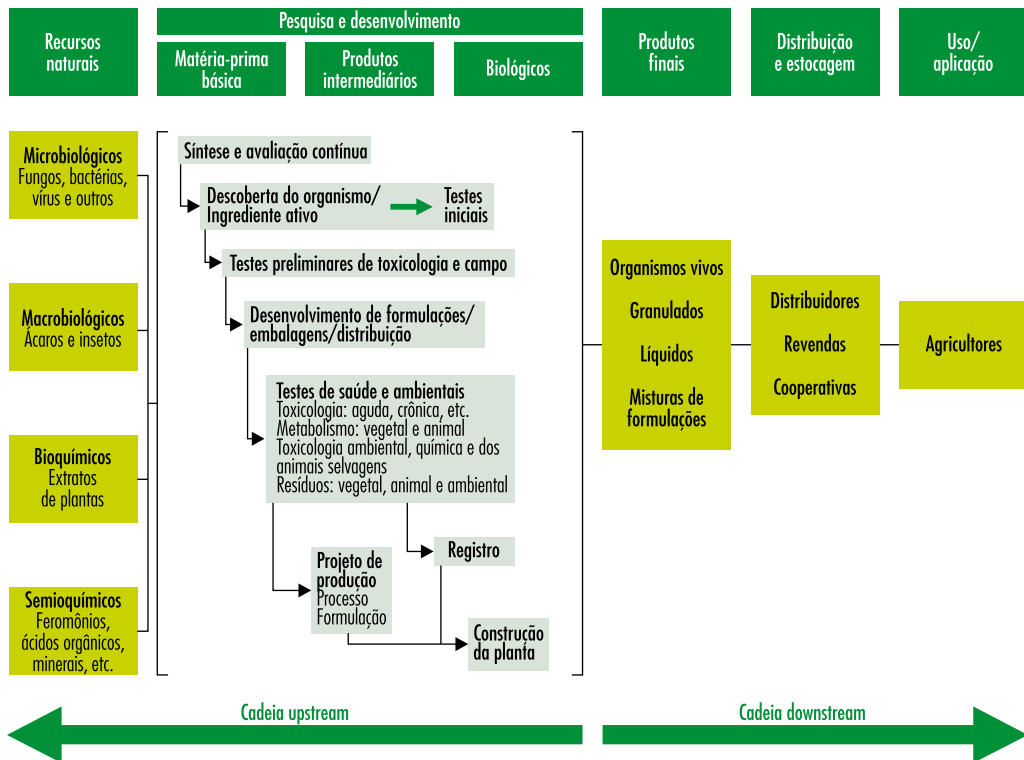


Figura 4. Cadeia produtiva de produtos biológicos para uso agrícola no Brasil.

- Dificuldades de integração com outros métodos de controle. Restrição de uso em misturas com outros produtos técnicos ou em sistemas integrados de manejo. A carência de estudos de misturas com pesticidas agrícolas, ou mesmo em sistemas integrados (biológicos + químicos), representa um fator crítico para a intensificação do uso de biológicos.
- Restrições legais nacionais que diferem de outros países.
- Baixo nível de orientação dos agricultores para o uso de biológicos, os quais obtêm resultados pouco significativos de controle em razão do manuseio incorreto dos produtos biológicos.
- Sistema nacional de extensão rural inoperante na maioria dos Estados brasileiros, que repercute na ausência de capacitação e acompanhamento dos agricultores durante o uso e manejo das lavouras com produtos biológicos.
- Falta de incentivos fiscais aos agricultores, na compra e uso de biopesticidas. Não há diferencial nos processos de financiamento de áreas agrícolas de agricultores que utilizam produtos biológicos.

Ao mesmo tempo em que se verificam diversas barreiras, condições atuais contribuem diretamente para o aumento do mercado de biológicos no País e no mundo, somando-se ao desejo da população de consumir produtos agrícolas saudáveis e com menor impacto ambiental ao longo da sua cadeia produtiva, dentre elas:

- Baixo efeito residual dos produtos biológicos nos alimentos e no ambiente.
- Redução da eficiência e eficácia de diversos pesticidas químicos sintéticos tradicionais, principalmente pela alta pressão de seleção exercida sobre os organismos-alvo.
- Aumento dos processos de detecção, análise, monitoramento e rastreabilidade de pesticidas em alimentos consumidos in natura ou processados.
- Avanço tecnológico nos processos de identificação e caracterização de novos biopesticidas aliado às novas técnicas de análise de viabilidade, pureza e estabilidade de produtos biológicos.
- Ampliação dos estudos de compatibilidade entre os produtos biológicos e químicos sintéticos.
- Aumento das exigências legais para gerenciamento de resíduos provenientes do uso de pesticidas químicos, que encarecem o processo de aplicação e demandam estruturas e acompanhamento contínuo das propriedades.

Considerando assertiva a previsão de aumento da produção e consumo mundial de alimentos, é essencial que o setor de insumos agrícolas esteja bem estruturado. O cenário futuro exigirá intensificar o uso de tecnologias para maior produtividade e, também, reduzir o impacto sobre os recursos naturais e produtos agrícolas sem resíduos de pesticidas. Além disso, a crescente escassez de recursos naturais e o enfrentamento das alterações climáticas e mercados mais exigentes unirão empresas e consumidores em torno de um propósito comum, evitar as mudanças ambientais globais e preservar o ambiente. Nesse contexto, surgem novas oportunidades de negócios, incluindo o desenvolvimento de recursos a partir de energias limpas e de produtos ecologicamente corretos.

Nos próximos anos, mudanças globais passarão a integrar desafios ainda maiores para o uso de produtos biológicos. Com o aumento da demanda e preferência do consumidor por produtos orgânicos, haverá necessidade de ampliar a escala de produção desses alimentos e conseqüentemente a análise do mercado de biológicos e intensificação da produção deverá ser revista. Muitos produtos utilizados hoje em pequena e média escala deverão passar por ampliação e modernização das suas plataformas de produção. Empresas atentas a esse mercado futuro estão desenvolvendo e aprimorando seus serviços de suporte e equipamentos para oferecerem

sistemas autônomos como biorreatores e fermentadores com capacidade acima de 2 mil litros. Internacionalmente poucas empresas oferecem esses serviços (Velivelli et al., 2014; Dunham, 2015).

No Brasil, a prioridade está na pesquisa e desenvolvimento de novos produtos, a partir da identificação e triagem de isolados de vírus ou bactérias, coleções de culturas de fungos e o aprimoramento dos microbiológicos nos principais centros de referência agrícola. Porém, o desafio verificado na escala de produção demandará outras iniciativas nacionais, no fomento e fortalecimento de empresas capazes de empreender no desenvolvimento de plataformas inteligentes de produção, com sistema de controle e qualidade robustos.

Na mesma linha de desafios e tendências, embalagens e formulações que assegurem a eficácia no transporte e uso de produtos biológicos agrícolas serão diferenciais para as empresas que investirem no desenvolvimento desses temas. Dispositivos dosadores, mecanismos de liberação controlada, protetivos solares, condicionadores de estabilidade térmica e inúmeros outras inovações para o segmento que cresce em escala exponencial.

Os desafios não estão só na produção ou em laboratórios e centros de pesquisa. Produtores e usuários de biológicos também enfrentarão muitas dificuldades técnicas em razão da complexidade na aplicação das bases do manejo integrado. Com a tendência de aumento na variabilidade e no número de pragas e doenças, muitos produtores deverão reconhecer as especificidades por região, cultivo, organismos de controle, modos de segurança de uso, entre outros, que garantirão a eficácia e vida útil dos biológicos no mercado.

Essa tendência também repercutirá no consumidor, o qual exigirá maior clareza nas especificações do processo produtivo, rastreabilidade, causas de riscos à saúde, não somente a toxicidade dos novos produtos, mas prováveis ações alergênicas que biológicos podem causar à população.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS EMPRESAS DE CONTROLE BIOLÓGICO. **ABCBio projeta expansão de mercado**. Disponível em: <<http://www.abcbio.org.br/conteudo/publicacoes/associacao-brasileira-das-empresas-de-controle-biologico-projeta-expansao-de-mercado/>>. Acesso em: 5 set. 2017.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUÍMICA FINA, BIOTECNOLOGIA E SUAS ESPECIALIDADES. 2017. Disponível em: <<http://www.abifina.org.br/>>. Acesso em: 20 nov. 2017.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS DEFENSIVOS GENÉRICOS. 2017. Disponível em: <<https://www.aenda.org.br/>>. Acesso em: 20 nov. 2017.

- BRASIL FOOD TRENDS 2020. São Paulo: Federação das Indústrias do Estado de São Paulo: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 2010. 176 p. Disponível em: <http://www.brasilfoodtrends.com.br/Brasil_Food_Trends/index.html>. Acesso em: 20 nov. 2017.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Agrofit**. 2018. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 20 set. 2018.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Séries periódicas**. 2017. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&t=&Pagina_objcmsconteudos=1#A_objcmsconteudos>. Acesso em: 20 nov. 2017.
- DUNHAM, W. C. Evolution and future of biocontrol. In: ANNUAL BIOCONTROL INDUSTRY MEETING, 10., 2015, Basel, Switzerland. **Paper**... Basel: ABIM, 2015. Disponível em: <http://www.abim.ch/index.php?eID=tx_nawsecuredl&u=0&g=0&t=1489234639&hash=9a70d39f93f7e559c74c63844ae047a9aa3c37ea&file=fileadmin/abim/documents/presentations2015/Keynote_Dunham_ABIM_2015.pdf>. Acesso em: 5 abr. 2017.
- DUNHAMTRIMMER LLC. **Markets for biological products: global market landscape**. 2017. Disponível em: <<http://www.bpia.org/member-company/dunham-trimmer-llc/>>. Acesso em: 13 out. 2017.
- FAO. **FaoStat**. 2017a. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/>>. Acesso em: 20 nov. 2017.
- FAO. **Pesticides use**. 2017b. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/RP>>. Acesso em: 20 nov. 2017.
- IBGE. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola – LSPA**. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/9201-levantamento-sistemico-da-producao-agricola.html?&t=downloads>>. Acesso em: 20 nov. 2017.
- MARKETS AND MARKETS. **Agricultural biologicals market research reports & consulting**. Disponível em: <<https://www.marketsandmarkets.com/agricultural-biologicals-market-research-205.html>>. Acesso em: 20 set. 2018.
- MITTMANN, L. M. Inimigos do bem. **Revista a Granja**, ed. 823, jul. 2017. Matéria de capa.
- PARRA, J. R. P. Biological control in Brazil: an overview. **Scientia Agrícola**, v. 71, n. 5, p. 345-355, Sept./Oct. 2014. DOI: 10.1590/0103-9016-2014-0167.
- PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; COELHO, JR., A.; GEREMIAS, L. D.; CÔNSOLI, F. L. Trichogramma as a tool for IPM in Brazil. In: VINSON, B.; GREENBERG, S. M.; LIU, T.; RAO, A.; VOLOSCIUK, L. F. (Ed.). **Augmentative biological control using *Trichogramma spp.*: current status and perspectives**. Yangling: Northwest A&F University Press, 2015. p. 472-496.
- RESEARCH AND MARKETS. **Biopesticides - global strategic business report**. 2016a. Disponível em: <<http://www.researchandmarkets.com/publication/mlv3aqe/347972>>. Acesso em: 13 out. 2017.
- RESEARCH AND MARKETS. **Global pesticides market – segmented by type, application area and geography – trends and forecasts (2014-2020) – sustainability, regulation & competition**. 2016b. Disponível em: <http://www.researchandmarkets.com/research/4hd338/global_pesticides>. Acesso em: 10 out 2017.
- VELIVELLI, L. S. S.; DE VOS, P.; KROMANN, P.; DECLERCK, S.; PRESTWICH, B. D. Biological control agents: from field to market, problems, and challenges. **Trends in Biotechnology**, v. 32, n. 10, p. 493-496, Oct. 2014. DOI: 10.1016/j.tibtech.2014.07.002.

O interesse pelo controle biológico de pragas da agricultura tem aumentado de forma crescente nas últimas décadas. As principais razões são: a relevância contínua de pragas, como insetos, doenças de plantas e problemas com plantas infestantes; o uso excessivo de pesticidas químicos; e o aumento da invasão de novas pragas.

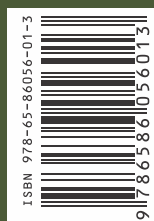
Nesse contexto, pretende-se que esta obra contribua para melhor compreensão e estímulo à aplicação do controle biológico na agricultura, servindo como uma ferramenta de ensino e consulta para professores, alunos e outros interessados.

O livro aborda os fundamentos do controle biológico e os principais métodos usados para o desenvolvimento e utilização de agentes de controle biológico de insetos, ácaros, nematoides, doenças em geral e plantas invasoras, e expande para o uso de semioquímicos. Apresenta ainda a legislação brasileira afeta à pesquisa, ao registro e à comercialização de agentes biológicos. Finaliza com uma análise do mercado de produtos biológicos para o controle de pragas, tal como se apresenta em 2020.

Espera-se que a presente obra estimule estudantes e pesquisadores a aprofundarem as pesquisas nesta importante área do conhecimento, de modo a contribuir com o esforço mundial de uso do controle biológico para alcançar uma agricultura cada vez mais sustentável.



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



CGPE 15830