

# Defensivos Agrícolas Naturais

## Uso e Perspectivas

Bernardo de Almeida Halfeld-Vieira  
Jeanne Scardini Marinho-Prado  
Kátia de Lima Nechet  
Marcelo Augusto Boechat Morandi  
Wagner Bettioli

**Editores Técnicos**



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Meio Ambiente  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

# **Defensivos Agrícolas Naturais**

Uso e Perspectivas

*Bernardo de Almeida Halfeld-Vieira  
Jeanne Scardini Marinho-Prado  
Kátia de Lima Nechet  
Marcelo Augusto Boechat Morandi  
Wagner Bettiol*

*Editores Técnicos*

*Embrapa  
Brasília, DF  
2016*

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Meio Ambiente**

Rodovia SP-340, Km 127,5, Tanquinho Velho  
Caixa Postal 69  
CEP 13820-000 Jaguariúna, SP  
Fone: + 55 (19) 3311-2700  
Fax: + 55 (19) 3311-2640  
<https://www.embrapa.br/meio-ambiente/>  
SAC: <https://www.embrapa.br/fale-conosco/sac/>

**Comitê de Publicações da Embrapa Meio Ambiente**

Presidente

*Maria Isabel de Oliveira Penteadó*

Secretária-Executiva

*Cristina Tiemi Shoyama*

Membros

*Daniel Terao (suplente)*

*Elisabeth Francisconi Fay*

*Joel Leandro de Queiroga*

*Lauro Charlet Pereira (suplente)*

*Maria Lúcia Zuccari (suplente)*

*Nilce Chaves Gattaz*

*Rodrigo Mendes*

*Victor Paulo Marques Simão*

Revisão de texto

*Nilce Chaves Gattaz*

Normalização bibliográfica

*Victor Paulo Marques Simão*

Capa e projeto gráfico

*Gabriel Pupo Nogueira*

Editoração eletrônica

*Gabriel Pupo Nogueira*

*Silvana Cristina Teixeira*

**1ª edição**

Publicação digitalizada (2016)

**Todos os direitos reservados**

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

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Embrapa Meio Ambiente

---

Defensivos agrícolas naturais usos e perspectivas / Bernardo de Almeida Halfeld Vieira... [et al.], editores técnicos. Brasília, DF: Embrapa, 2016.  
E-book no formato PDF

**ISBN 978-85-7035-642-0**

1. Controle biológico. 2. Doença de planta. 3. Biopesticida. I. Vieira, Bernardo de Almeida Halfeld. II. Marinho-Prado, Jeanne Scardini. III. Nechet, Katia de Lima. IV. Morandi, Marcelo Augusto Boechat. V. Bettiol, Wagner. VI. Título.

---

CDD (21.ed.) 632.9

© Embrapa, 2016

## ■ Autores

### **Alexandre Igor de Azevedo Pereira**

Agrônomo, Doutor em Entomologia, professor do Instituto Federal Goiano, Urutaí, GO

### **Alexandre de Sene Pinto**

Engenheiro Agrônomo, Doutor em Entomologia, professor do Centro Universitário Moura Lacerda, Ribeirão Preto, SP

### **Angelo Pallini**

Engenheiro Agrônomo, Doutor em Biologia Populacional, professor da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG

### **André Lage Perez**

Biólogo, Doutorando em Entomologia

### **Antonio Batista Filho**

Engenheiro Agrônomo, Doutor em Entomologia, diretor geral do Instituto Biológico, Campinas, SP

### **Antonio Luiz Cerdeira**

Engenheiro Agrônomo, Doutor em Bioquímica, pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP

**Bernardo de Almeida Halfeld Vieira**

Engenheiro Agrônomo, Doutor em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP

**Bruno F. F. Barbosa**

Engenheiro Agrônomo, Doutor em Agronomia, professor do Centro Universitário de Rio Preto, São José do Rio Preto, SP

**Bruno S. Vieira**

Engenheiro Agrônomo, Doutor em Fitopatologia, professor do Instituto Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG

**Charles L. Cantrell**

Químico, Doutor em Química, pesquisador do United States Department of Agriculture, Mississippi, Estados Unidos

**Cleber M. Oliveira**

Engenheiro Agrônomo, Doutor em Entomologia, professor da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG

**Cynthia B. Pestana**

Bióloga, Doutora em Biologia, diretora da Tecam Tecnologia Ambiental Ltda, São Roque, SP

**Danilo S. Pedrazzoli**

Engenheiro Agrônomo, diretor industrial da Koppert Biological Systems,  
Piracicaba, SP

**Denise T. Rezende**

Engenheira Agrônoma, Doutora em Proteção de Plantas, diretora Dow  
AgroSciences, Cravinhos, SP

**Elaine Ferrari Brito**

Engenheira Agrônoma, Doutora em Agronomia, professora da Universidade  
Federal de Viçosa, Viçosa, MG

**Elem Fialho Martins**

Engenheira Agrônoma, Mestranda em Entomologia

**Fernanda C. L. Medeiros**

Engenheira Agrônoma, Doutora em Fitopatologia, pesquisadora da Syngenta  
Proteção de Cultivos, Paulínia, SP

\* **Fernando Petacci** – *in memoriam*

**Felipe Lemos**

Engenheiro Agrônomo, Doutor em Entomologia, professor da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG

**Flávio H. V. Medeiros**

Engenheiro Agrônomo, Doutor em Agronomia, professor da Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG

**Flávio Gonçalves de Jesus**

Engenheiro Agrônomo, Doutor em Entomologia, professor do Instituto Federal Goiano, Urutaí, GO

**Franck E. Dayan**

Ciências, Doutor em Fisiologia Vegetal, pesquisador do United States Department of Agriculture, Mississippi, Estados Unidos

**Fredy A. Rodríguez-Cruz**

Engenheiro Agrônomo, Doutor em Entomologia, professor da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG

**Gabriela Garmendia**

Doutora em Química, professora da Universidad de la República Montevideo, Montevideo, Uruguai

**Gustavo Ranzani Herrmann**

Engenheiro Agrônomo, diretor comercial da Koppert Biological Systems, Piracicaba, SP

**Henrique Monteiro Ferro**

Engenheiro agrônomo, Doutor em Fitopatologia, sócio-diretor da BioValens Ltda,  
Rio Verde, GO

**Jaime M. dos Santos**

Engenheiro Agrônomo, Doutor em Agronomia, professor da Universidade  
Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, SP

**Jair Mafezoli**

Químico, Doutor em Química, professor da Universidade Federal do Ceará,  
Fortaleza, CE

**Jeanne S. M. Prado**

Engenheira Agrônoma, Doutora em Entomologia, pesquisadora da Embrapa  
Meio Ambiente, Jaguariúna, SP

**João Alfredo M. Ferreira**

Engenheiro Agrônomo, Doutor em Biologia Populacional, professor da  
Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG

**Johan Coert van Lenteren**

Biólogo, Doutor em Ecologia, professor Universidade de Wageningen, Holanda,  
Países Baixos

**José Cola Zanuncio**

Engenheiro Florestal, Doutor em Entomologia, professora da Universidade  
Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

**José Eduardo M. Almeida**

Engenheiro Agrônomo, Doutor em Entomologia, pesquisador do Instituto Biológico, Campinas, SP

**José Eduardo Serrão**

Biólogo, Doutor em Zoologia, professor da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG

**José R. P. Parra**

Engenheiro Agrônomo, Doutor em Entomologia, professor da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, SP

**Juliana Maria Oliveira**

Engenheira Agrônoma, Doutoranda em Engenharia Agrícola

**Kátia L. Nechet**

Engenharia Agrônoma, Doutora em Fitopatologia, pesquisadora da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP

**Kris Wyckhuys**

Engenheiro em Biotecnologia, Doutor em Entomologia, pesquisador da International Center for Tropical Agriculture - CIAT, Há Noi, Vietnam

**Lilia A. S. de Moraes**

Bióloga, Doutora em Horticultura, pesquisadora da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ

**Luís G. Leite**

Engenheiro Agrônomo, Doutor em Entomologia, pesquisador do Instituto Biológico, Campinas, SP

**Luiz Alexandre N. de Sá**

Engenheiro Agrônomo, Doutor em Entomologia, pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP

**Madelaine Venzon**

Engenheira Agrônoma, Doutora em Entomologia, professora de Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG

**Maria Conceição P.Y. Pessoa**

Matemática, Doutora Engenharia Elétrica (Automação), pesquisadora da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP

**Marcela Sangorrín**

Bióloga, Doutora em Ciências Biológicas, pesquisadora da CONICET, Buenos Aires, Argentina

**Marcelo A. B. Morandi**

Engenheiro Agrônomo, Doutor em Fitopatologia, chefe-geral da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP

**Mário L. V. Resende**

Engenheiro Agrônomo, Doutor em Fitopatologia, professor da Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG

**Maria Augusta Pereira Lima**

Bióloga, Doutora em Entomologia, professora de Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG

**Marcus V. A. Duarte**

Engenheiro Agrônomo, mestre em Entomologia, pesquisador da EPAMIG - Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG

**Marisol Vargas**

Engenheira Agrônoma, Doutora em Ciências Agronômicas, professora da Universidade de Concepción, Chile.

**Matthew A. Ciomperlik**

Doutor em Entomologia, pesquisador do United States Department of Agriculture, Edinburg, TX, Estados Unidos

**Miriam Fumiko Fujinawa**

Engenheira Agrônoma, Doutora em Agronomia, professora do Instituto Federal Goiano, Morrinhos, GO

**Murillo Lobo Junior**

Engenheiro Agrônomo, Doutor em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO

**Paul W. Pare**

Bioquímico, Doutor em Química, professor da Universidade Texas Tech, Texas, Estados Unidos

**Paulo R. P. Martinelli**

Engenheiro Agrônomo, Doutor em Agronomia, professor do Instituto Federal de São Paulo, São Paulo, SP

**Pedro L. M. Soares**

Engenheiro Engenheiro Agrônomo, Doutor em Agronomia, professor da Unesp - Universidade Paulista "Julio de Mesquita Filho", Jaboticabal, SP

**Rafael B. de Carvalho**

Engenheiro Agrônomo, Mestre em Agronomia, SP

**Rêmulo Araújo Carvalho**

Engenheiro Agrônomo, Mestre em Biologia Ambiental, pesquisador da Emepa - Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba, João Pessoa, PB

**Ricardo M. Souza**

Engenheiro Agrônomo, Doutor em Fitopatologia, professor da Universidade de Lavras, Lavras, MG

**Rita M. Moraes**

Engenheira Agrônoma, Doutora em Horticultura, pesquisadora da Universidade do Mississippi, Mississippi, Estados Unidos

**Robert W. Barreto**

Engenheiro Agrônomo, Doutor em Botânica, professor da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG

**Rodrigo Mendes**

Engenheiro Agrônomo, Doutor em Genética e Melhoramento de Plantas, chefe de P&D da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP

**Rosa Miriam Vasconcelos**

Advogada, Doutora em Direito, coordenadora administrativa da Secretária de Negócios da Embrapa, Brasília, DF

**Sebastião Martins Filho**

Engenheiro Agrônomo, Doutor em Genética e Melhoramento, professor da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG

**Silvana Vero**

Química, Doutora em Química, professora da Universidade de la República, Montevideo, Uruguai

**Silvia de S. Freitas**

Química, Doutora em Química Analítica, professora da Universidade Federal de Goiás, Catalão, GO

**Sonia C. do Nascimento de Queiroz**

Química, Doutora em Química, pesquisadora da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP

**Stephen Oscar Duke**

Doutor em Fisiologia de Plantas, pesquisador da United States Department of Agriculture, Mississippi, Estados Unidos

**Trazilbo J. Paula Júnior**

Engenheiro Agrônomo, Doutor em Fitopatologia, pesquisador da EPAMIG – Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG

**Vanda H. P. Bueno**

Bióloga, Doutora em Entomologia, professora da Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG

**Vanessa dos S. Paes**

Engenheira Agrônoma, Doutora em Produção Vegetal

**Wagner Bettiol**

Engenheiro Agrônomo, Doutor em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP

**Wagner de S. Tavares**

Engenheiro Agrônomo, Doutor em Fitotecnia, professor da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG

**Willem Ravensberg**

Biólogo, Doutor em Entomologia, pesquisador da Koppert Biological Systems,  
Holanda, Países Baixos

**Yelitza C. Colmenarez**

Engenheira Agrônoma, Doutora em Proteção de Plantas, Representante  
Regional CABI- América Latina e Caribe, Botucatu, SP

## Apresentação

O agronegócio brasileiro é líder mundial no setor, ocupando posição de destaque no cenário internacional. Essa liderança implica em uma crescente dependência de insumos importados. Dentre os insumos, os agrotóxicos são cada vez mais utilizados, tanto em volume, como em quantidade de ingrediente ativo/área. O consumo brasileiro é equivalente a cerca de 20% de todos os agrotóxicos produzidos no mundo, e em 2014, as vendas foram superiores a US\$ 12 bilhões, três vezes superior ao ano de 2007. Esses dados refletem a importância do controle químico na produção agrícola nacional, que apresenta características atraentes, como a simplicidade, a previsibilidade e a necessidade de pouco entendimento de processos básicos do agroecossistema para a sua aplicação. Entretanto, esse aumento tem promovido problemas ambientais e contaminação de alimentos, e conseqüentemente há uma crescente pressão, por parte da sociedade, pela redução do impacto ambiental e social das atividades agrícolas.

Em contraste a esse modelo, o desenvolvimento de sistemas que buscam obter vantagens das interações de ocorrência natural, dando ênfase ao manejo das relações biológicas e processos naturais, estão em plena expansão no mundo, incluindo o Brasil, principalmente nas pequenas e médias propriedades agrícolas e na agricultura familiar. Felizmente, essa expansão também se observa, mais recentemente, em grandes propriedades agrícolas. Tendo sido iniciada por meio de fundações ou organizações não governamentais, hoje a pesquisa com sistemas agrícolas alternativos ganha impulso e se amplia para diversos setores empresariais e também nas instituições públicas de pesquisa agropecuária. Dessa forma, o mercado de defensivos agrícolas naturais, principalmente capitaneado

pelo controle biológico, está crescendo cerca de 16% ao ano no mundo. No Brasil esse segmento do agronegócio já representa de 3 a 5% das vendas dos pesticidas químicos.

Esse movimento tem colocado em discussão o uso de “defensivos agrícolas naturais” como fundamental para a produção saudável de alimentos. Os defensivos agrícolas naturais são os produtos originários de partes de, ou compostos por plantas, microrganismos, animais e minerais. Os pesquisadores do setor, sentindo a necessidade de discutir mais profundamente o tema, idealizaram o Congresso Brasileiro de Defensivos Agrícolas Naturais - COBRADAN. A quinta edição foi organizada pela Embrapa Meio Ambiente, cujo tema foi *O papel dos defensivos naturais na agricultura do século XXI* e um dos resultados é a edição do presente livro, composto por capítulos escritos pelos palestrantes do congresso. No livro, são abordados, inicialmente, temas pertinentes ao acesso ao patrimônio genético natural, legislação para o desenvolvimento e uso de defensivos naturais, testes laboratoriais e qualidade de análises exigidas para o registro destes produtos. A seguir, são tratados temas a respeito do potencial de desenvolvimento de defensivos naturais derivados de plantas, incluindo questões de biodiversidade, tecnologia de obtenção, pesquisa e uso de defensivos agrícolas naturais. O papel do controle biológico de pragas e doenças na agricultura do século XXI, a visão epidemiológica do controle biológico de pragas, doenças e plantas daninhas e as visões do produtor e da indústria quanto ao processo de transição para um modelo agrícola de base biológica em diferentes escalas (grandes culturas, cultivo intensivo, entre outros) fecham a obra.

Os editores, todos pesquisadores da Embrapa Meio Ambiente, se sentem orgulhosos com o lançamento do livro pela atualidade da temática, pois contribuirá de forma relevante para o avanço e con-

solidação do tema, e será de grande valia tanto para pesquisadores e indústrias de insumos, quanto para técnicos e produtores que buscam uma agricultura mais sustentável.

### **Os editores**

## Sumário

1. Aplicação da Lei nº 13.123, de 20 de Maio de 2015 às Atividades de Pesquisa e Desenvolvimento de Produtos Biológicos .....	22
2. Estudos de Laboratório Exigidos para o Registro de Produtos Microbiológicos .....	30
3. Análise do mercado de defensivos agrícolas naturais .....	52
4. Solos Supressivos e o Controle de Doenças de Plantas .....	65
5. Controle biológico de patógenos de solo .....	81
6. Quorum-Quenching: uma Nova Perspectiva de Controle Biológico de Bacterioses de Plantas.....	101
7. Indução de Resistência em Plantas: Modos de Ação e Estudos de Caso .....	114
8. Uso dos fungos <i>Sphaceloma poinsettiae</i> e <i>Bipolaris euphorbiae</i> como mico-herbicidas no controle de <i>Euphorbia heterophylla</i> .....	147
9. Controle Biológico de Fitonematoides com Fungos Nematófagos .....	177
10. Manejo Integrado de Doenças e Pragas Utilizando o Controle Biológico .....	214
11. Uso de Taninos de Acácia-Negra no Controle da Fusariose do Abacaxizeiro .....	238
12. Controle Biológico de Doenças em Pós-Colheita .....	261
13. Desafios da Produção e Comercialização de Entopatógenos para o Controle de Pragas no Brasil.....	295
14. Desafios da Produção e Comercialização de Parasitoides para o Controle de Pragas no Brasil.....	335
15. Predadores no Controle Biológico de Pragas: Sucessos e Desafios .....	359
16. Controle Biológico de Ácaros .....	398
17. Controle Biológico em Cultivo Protegido.....	457

18. Pesticidas Naturais Derivados de Plantas: Descoberta e Usos .....	505
19. Plantas com Atividade Inseticida .....	542
20. Uso de Óleo da Casca da Laranja no Controle da Mosca-negra-dos-citros .....	594
21. Nim no Controle de Pragas: Eficiência, Seletividade e Fitotoxicidade .....	609
22. Busca por Inseticidas Botânicos no Cerrado: um Argumento para a Conservação do Bioma e a Importância da Faveira ( <i>Dimorphandra Mollis</i> Benth., Fabaceae) neste Contexto .....	635
23. Modelagem e Simulação como Ferramentas para o Estudo de Agentes de Controle Biológico de Pragas .....	744
24. Uso do Manejo Integrado de Pragas e Controle Biológico pelos Agricultores na América Latina e no Caribe: Desafios e Oportunidades.....	802

# Aplicação da Lei nº 13.123, de 20 de Maio de 2015 às Atividades de Pesquisa e Desenvolvimento de Produtos Biológicos

Rosa Miriam Vasconcelos

---

## Introdução

De uma maneira geral, é do conhecimento das instituições de pesquisa e das empresas privadas que as atividades de pesquisa, produção, embalagem e rotulagem, transporte, armazenamento, comercialização, propaganda comercial, utilização, importação e de exportação de produtos biológicos são regidas pelo marco legal aplicável aos agrotóxicos e afins<sup>1</sup>. No entanto, a aplicabilidade, também, do marco legal sobre acesso ao patrimônio genético às atividades de pesquisa e desenvolvimento de produtos biológicos é ainda desconhecida por muitas instituições e empresas. Por isso, o presente trabalho abordará, de forma mais detalhada, os aspectos legais decorrentes da aplicação da Lei nº 13.123, de 20 de maio de 2015, às atividades de pesquisa e desenvolvimento visando ao desenvolvimento de produtos biológicos (BRASIL, 2015).<sup>2</sup>

---

<sup>1</sup> A Lei n.º 7.802, de 11/07/1989 (BRASIL, 1989), com a nova redação dada pela Lei n.º 9.974, de 6/06/2000 (BRASIL, 2000) e decretos regulamentadores, em especial o Decreto n.º 4074, de 04/01/2002 (BRASIL, 2002), bem como as Instruções Normativas Conjuntas específicas expedidas pelos órgãos federais responsáveis pelo registro de produtos biológicos: o Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento (MAPA), Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA).

<sup>2</sup> A referida Lei entrou em vigor em 20 de novembro de 2015, oportunidade em que revogou a Medida Provisória nº 2.186-16, de 2001 (BRASIL, 2001).

Estão incluídas no escopo da Lei em comento, as atividades de acesso ao patrimônio genético nativo, entendendo-se no conceito de patrimônio genético:

- I. Espécies animais, vegetais, microbianas ou de outra natureza, inclusive domesticadas, encontradas em condições *in situ*, ou mantidas em condições *ex situ*, desde que tenham sido coletadas em condições *in situ* no território nacional, na plataforma continental, no mar territorial e na zona econômica exclusiva;
- II. Variedades tradicionais locais ou crioulas;
- III. Raças localmente adaptadas ou crioulas;
- IV. Espécies introduzidas no território nacional pela ação humana, que formem populações espontâneas e que sejam capazes de se autoperpetuarem no País; e
- V. Microorganismos isolados de substratos obtidos no território nacional, no mar territorial, na zona econômica exclusiva ou na plataforma continental.

As previsões indicadas nos incisos IV acima terá impacto significativo nas atividades de pesquisa e desenvolvimento de produtos biológicos, uma vez que no caso de utilização, por exemplo, de organismos dos filos Arthropoda e Nematoda, caberá à instituição responsável pela pesquisa ou desenvolvimento proceder ao enquadramento ou não desses filos no escopo da lei.

Após a entrada em vigor da Lei em comento<sup>3</sup>, em novembro de 2015, a utilização de patrimônio genético para a execução de pesquisa ou desenvolvimento tecnológico fica condicionada:

---

<sup>3</sup> Até a entrada em vigor da Lei nº 13.123, de 2015, a utilização de amostras de patrimônio genético para fins de pesquisa e desenvolvimento continua sendo regida pela Medida Provisória nº 2.186-16, de 23/08/01, que estabelece a obrigatoriedade de obtenção de prévia autorização de acesso do Conselho de Gestão do Patrimônio Genético – CGEN (BRASIL, 2001).

I. Ao cadastro da atividade junto ao Conselho de Gestão do Patrimônio Genético - CGEN, nas seguintes hipóteses:

A. Acesso ao patrimônio genético ou ao conhecimento tradicional realizado:

- a. dentro do País, por pessoa natural ou jurídica nacional, pública ou privada;
- b. no exterior, por pessoa natural ou jurídica nacional, pública ou privada;
- c. por pessoa jurídica sediada no exterior associada a instituição nacional de pesquisa, pública ou privada;

B. Remessa de amostra de patrimônio genético para o exterior; e

C. Envio para o exterior de amostra de patrimônio genético para prestação de serviços.

II. À prévia autorização, no caso de acesso ao patrimônio genético realizado em:

A. Área indispensável para a segurança nacional (150 km de largura, paralela à linha divisória terrestre do território nacional); ou

B. Águas jurisdicionais brasileiras, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva.

É importante destacar que as exigências contidas na Lei nº 13.123, de 2015, devem ser observadas independentemente da data da coleta das amostras ou da forma de sua aquisição.

O cadastro da atividade de pesquisa ou desenvolvimento tecnológico deve preceder a realização de qualquer uma das seguintes ações:

- I. Remessa de amostras para terceiros;

- II. Requerimento de direito de propriedade intelectual sobre o produto oriundo do acesso;
- III. Notificação ao CGEN do produto acabado ou do material reprodutivo desenvolvido;
- IV. Comercialização de produto intermediário; ou
- V. Divulgação de resultados, finais ou parciais.

A exploração econômica de produto acabado ou material reprodutivo oriundo do acesso ao patrimônio genético estará sujeita à apresentação ao CGEN de notificação e à repartição de benefícios, que deve ser formalizada no prazo de até 365 dias, contados da notificação.

A obrigação de repartir benefícios incidirá sobre a exploração econômica de produto acabado ou de material reprodutivo oriundo do acesso ao patrimônio genético. No entanto, considerando que produtos desenvolvidos a partir de microrganismos, como fertilizantes, inoculantes e corretivos, bem como agrotóxicos, seus componentes e afins, não se enquadram no conceito “material reprodutivo”, que é utilizado pela Lei como parâmetro para o estabelecimento de regras para a repartição de benefícios para as atividades agrícolas<sup>4</sup>, a repartição de benefícios decorrente da exploração econômica de produtos biológicos deverá ser efetivada de acordo com as regras fixadas para “produto acabado”. Assim sendo, o fabricante do produto biológico, ou seja, o fabricante do “produto acabado” estará sujeito à repartição de benefícios.

A título meramente ilustrativo ressalta-se que estão em debate na regulamentação da Lei nº 13.123, de 2015, pontos questionados

---

<sup>4</sup>A Lei nº 13.123, de 2015 define “atividades agrícolas” da seguinte forma: “atividades de produção, processamento e comercialização de alimentos, bebidas, fibras, energia e florestas plantadas”.

pelo setor agrícola, dentre eles a possibilidade de enquadramento dos produtos biológicos no conceito de “produto intermediário”. Caso essa proposição venha a ser efetivamente inserida no regulamento, os produtos biológicos serão considerados insumos e a repartição de benefícios será devida pelo fabricante do “produto acabado” ou do “material reprodutivo”. Nesse caso, o desenvolvimento do produto biológico teria apenas que cadastrar a atividade ou obter autorização, conforme o caso; ficando isentos da obrigação de notificar e de repartir benefícios.

A repartição dos benefícios deverá ser negociada com a União e poderá constituir-se de uma das seguintes modalidades:

I. **Monetária**, no valor anual de 1% da receita líquida anual da exploração econômica do produto, ressalvada a hipótese de redução para até 0,1%, em acordo setorial entre o setor produtivo e a União; ou

II. **Não monetária**, incluindo, entre outras:

- A. Projeto para conservação ou uso sustentável de biodiversidade ou para proteção e manutenção de conhecimento, inovação ou prática de população indígena, comunidade tradicional ou agricultor tradicional;
- B. Transferência de tecnologia;
- C. Disponibilização do produto oriundo do acesso em domínio público ou sem proteção por direito de propriedade intelectual ou restrição tecnológica;
- D. Licenciamento, livre de ônus, do produto oriundo do acesso;
- E. Capacitação de recursos humanos em temas relacionados à conservação e ao uso sustentável de patrimônio genético ou conhecimento tradicional associado; e
- F. Distribuição gratuita em programas de interesse social do produto acabado ou material reprodutivo oriundo do acesso.

Para as modalidades não monetárias, o valor devido, a título de repartição de benefícios, será equivalente a 75% do previsto para a modalidade monetária, conforme regulamento a ser definido pelo CGEN.

Estarão isentos da obrigação de repartir benefícios as microempresas, empresas de pequeno porte, microempreendedores individuais e os agricultores tradicionais e suas cooperativas, com receita bruta anual igual ou inferior ao limite máximo estabelecido na Lei Complementar nº 123, de 14 de dezembro de 2006 (BRASIL, 2006).

O valor devido a título de repartição de benefícios na modalidade monetária deverá ser depositado no Fundo Nacional de Repartição de Benefícios - FNRB e será aplicado na execução das atividades listadas no art. 33 da Lei nº 13.123 (BRASIL, 2015).

A Lei nº 13.123, de 2015, estabelece regras especiais para a regularização das atividades, sendo que para a regularização de acesso ao patrimônio genético para fins de pesquisa científica, o usuário deverá cadastrar-se ou obter autorização do CGEN, seguindo as regras fixadas pela própria lei (BRASIL, 2015). A regularização extinguirá a exigibilidade das sanções administrativas previstas na Medida Provisória nº 2.186-16, de 2001 (BRASIL, 2001) e nos arts. 15 e 20 do Decreto nº 5.459, de agosto de 2005 (BRASIL, 2005).

Para a regularização de atividade de bioprospecção e desenvolvimento tecnológico, de acordo com as definições da Medida Provisória nº 2.186-16 (BRASIL, 2001), e da exploração econômica de produto ou processo, o interessado deverá firmar Termo de Compromisso com a União, o qual deverá prever, conforme o caso, obrigação do interessado de:

- I. Cadastrar a atividade ou requerer a autorização de acesso ou remessa, seguindo as regras fixadas pela Lei nº 13.123 (BRASIL, 2015).
- II. Notificar o produto ou processo oriundo do acesso;

III. Repartir, de acordo com as novas regras fixadas pela Lei nº 13.123 (BRASIL, 2015), os benefícios decorrentes da exploração econômica de processo ou produto oriundo do acesso, respeitado o limite temporal de até cinco anos anteriores à celebração do Termo de Compromisso.

O fiel cumprimento do Termo de Compromisso comprovado mediante parecer técnico emitido pelo Ministério do Meio Ambiente:

- I. Suspenderá a aplicação das sanções administrativas previstas nos arts. 16, 17, 18, 21, 22, 23 e 24 do Decreto nº 5.459, de 2005 (BRASIL, 2005);
- II. Extinguirá a exigibilidade das sanções administrativas previstas nos arts. 16 a 18 do Decreto nº 5.459, de 2005 (BRASIL, 2005), e
- III. Acarretará a redução em 90% do valor da multa aplicada. O saldo remanescente poderá, a pedido do usuário, ser convertido em obrigação de executar uma das modalidades de repartição de benefícios não monetária previstos na Lei nº 13.123 (BRASIL, 2015).

## Referências

BRASIL. Lei complementar n. 123, de 14 de dezembro de 2006. Institui o Estatuto Nacional da Microempresa e da Empresa de Pequeno Porte; altera dispositivos das Leis nºs 8.212 e 8.213, ambas de 24 de julho de 1991, da Consolidação das Leis do Trabalho - CLT, aprovada pelo Decreto-Lei nº 5.452, de 1º de maio de 1943, da Lei nº 10.189, de 14 de fevereiro de 2001, da Lei Complementar nº 63, de 11 de janeiro de 1990; e revoga as Leis nºs 9.317, de 5 de dezembro de 1996, e 9.841, de 5 de outubro de 1999. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 15 dez. 2006. Seção I, p. 1.

BRASIL. Lei nº 13.123, de 11 de maio de 2015. 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] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 21 maio 2015. Seção I, p. 1.

BRASIL. Lei n. 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, 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**, Brasília, DF, 12 jul. 1989. Seção I, p. 11459.

BRASIL. Lei n. 9.974, de 6 de junho de 2000. Altera a Lei n. 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, 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**, Brasília, DF, 7 jun. 2000. Seção I, p. 1.

BRASIL. Decreto n. 4.074, de 4 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei n. 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, 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**, Brasília, DF, 8 jan. 2002. Seção I, p. 1.

BRASIL. Decreto n. 5.459, de 7 de junho de 2005. Regulamenta o art. 30 da Medida Provisória n. 2.186-16, de 23 de agosto de 2001, disciplinando as sanções aplicáveis às condutas e atividades lesivas ao patrimônio genético ou ao conhecimento tradicional associado e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 8 jun. 2005. Seção I, p. 2.

BRASIL. Medida Provisória nº 2.186-16, de 23 de agosto de 2001b. Regulamenta o inciso II do § 1o e o § 4o do art. 225 da Constituição, os arts. 1o, 8o, alínea “j”, 10, alínea “c”, 15 e 16, alíneas 3 e 4 da Convenção sobre Diversidade Biológica, dispõe sobre o acesso ao patrimônio genético, a proteção e o acesso ao conhecimento tradicional associado, a repartição de benefícios e o acesso à tecnologia e transferência de tecnologia para sua conservação e utilização, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 24 ago. 2001. Seção I-E, p. 11.

## Estudos de Laboratório Exigidos para o Registro de Produtos Microbiológicos

Cynthia Bomfim Pestana

---

### Introdução

O uso de microrganismos para o controle de organismos indesejáveis na agricultura tem se tornado cada vez mais comum em diversos países.

Esses organismos, na forma pura ou formulada, são normalmente conhecidos como agentes microbiológicos de controle (AMCs) e se baseiam em fungos, bactérias, vírus e nematoides e têm se mostrado seguros em relação a seus possíveis efeitos sobre o homem e outros organismos não-visados do ambiente. Embora seu uso possa resultar no controle satisfatório de organismos indesejáveis sem que o ambiente seja desfavoravelmente afetado, não se deve esperar que devido a sua ocorrência natural, esses produtos sejam totalmente inócuos. É possível que um determinado microrganismo eficiente no controle de uma praga possa também afetar outros componentes biológicos do ecossistema (CAPALBO et al., 1999; DUCHET et al., 2008; GENTHNER et al., 1994; GRISOLIA et al., 2009).

É importante considerar que os produtos dos microrganismos e seus metabólitos não são considerados agentes microbiológicos de controle, segundo a legislação brasileira (Instrução Normativa (IN) Conjunta N° 03, de 10 de março de 2006 (BRASIL, 2006). Esta Instrução Normativa (IN) elaborada em conjunto pelo MAPA, ANVISA

e IBAMA, definiu critérios e exigências específicas para o registro de AMCs no Brasil (OLIVEIRA-FILHO, 2008). Segundo a legislação nacional (INC N° 3/2006), os agentes microbiológicos de controle são considerados os 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).

Compete aos órgãos públicos controlar o uso e estabelecer os critérios para avaliação adequada dos produtos biológicos previamente ao seu registro para uso comercial, dentro de normas compatíveis com os padrões internacionais que regulamentam o assunto. A avaliação deve ainda levar em consideração as diferenças fundamentais entre produtos químicos e biológicos no que se refere à composição, forma de ação e comportamento no ambiente. Os produtos biológicos à base de AMC são tipicamente de ocorrência natural e apresentam um modo de ação tipicamente não tóxico. No entanto, ao contrário dos agroquímicos, podem sobreviver e se reproduzir no ambiente e podem infectar ou causar doenças em outros organismos vivos. Por isso, são mais apropriadamente caracterizados quanto à sua segurança relacionada tanto à saúde quanto ao ambiente através de protocolos de testes especialmente desenvolvidos levando em conta as características únicas desses produtos. De maneira semelhante aos agroquímicos, os produtos devem passar por uma série de testes em laboratório (OLIVEIRA-FILHO et al., 2004).

No Brasil, a concessão de registro dos AMCs pelos órgãos federais está sujeita a apresentação prévia de dados que indiquem conclusivamente que o produto, quando usado de acordo com as indicações, não causará efeitos significativamente adversos aos seres humanos ou ao ambiente. Para o registro dos AMCs são requeri-

dos estudos de caracterização físico química, toxicológica e ecotoxicológica. Estudos de resíduos são condicionalmente requeridos. Os requisitos de toxicologia e ecotoxicologia foram agrupados em fases (em inglês denominados “tiers”) de I a IV. A fase I consiste em uma bateria de testes de curto prazo designados a avaliar o potencial de toxicidade, e as fases de II a IV são condicionalmente requeridas se forem observados efeitos adversos na fase I. Devido às suas características de baixa toxicidade, espera-se que a maior parte dos produtos microbiológicos seja testada apenas na fase I. Detalhes dos testes exigidos nas demais fases são descritos em Bettiol et al. (2014).

As Portarias Conjuntas nº66 de 1997 (BRASIL, 1997) e nº 1 de 2010 (BRASIL, 2010) IBAMA e INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial) exigem que todos os estudos para produtos com finalidade agrícola, incluindo os produtos microbiológicos, sejam realizados de acordo com os Princípios das Boas Práticas Laboratoriais (BPLs) em instalações de teste reconhecidas e monitoradas pelo INMETRO.

Os requisitos de qualidade necessários para o trabalho no laboratório, assim como as próprias normas para a realização dos estudos, tornam a abordagem para análise de AMCs muito similar aos demais produtos com finalidade agrícola. Particularidades e requisitos especiais desses estudos serão descritos a seguir, tendo em vista um conhecimento prévio dos protocolos utilizados para os produtos convencionais. Considerando-se a inocuidade da maioria dos AMCs, frente a diferentes organismos-teste e especificidade dos requerimentos de testes, o documento tratará apenas das metodologias da fase I com os organismos requeridos pela legislação brasileira.

## **Estudos de laboratório**

Tomando-se como base a Instrução Normativa Nº 3 e seus requisitos, o trabalho de laboratório inicia-se pela implantação do método de quantificação e identificação do AMC no produto microbiológico original. De acordo com o Artigo 6º da Instrução Normativa Nº 3, o laboratório executor deve providenciar a determinação da concentração e viabilidade da amostra do AMC para acompanhar todos os estudos físico-químicos, toxicológicos e ecotoxicológicos a serem realizados. A determinação da concentração do AMC (contagem de colônias, esporos ou outras estruturas biológicas viáveis) analisada deve ser compatível à concentração declarada pelo fabricante e deve ser desenvolvida pelo laboratório prestador de serviços conjuntamente com o fabricante, uma vez que essa etapa é crucial para o desenvolvimento do conjunto de estudos do produto a ser registrado. A colaboração entre laboratório e fabricante é um requisito da BPL e é necessária dada a particularidade das metodologias envolvidas. A metodologia de identificação/quantificação do AMC deve ser aplicada nos diferentes estudos toxicológicos requeridos pela legislação na avaliação do resultado final (INMETRO, 2011). De maneira semelhante aos agroquímicos (Decreto Nº 4074/2002 que regulamenta a lei Nº 7.802 (BRASIL, 1989), publicada no DOU em 08/01/2002), os produtos devem passar por uma série de testes em laboratório.

## **Caracterização físico-química**

A Instrução Normativa Nº 3 requisita, além do grau de pureza, a identificação e quantificação do AMC no produto original e outras propriedades físico-químicas do AMC, tais como: aspecto e cor; miscibilidade; pH; corrosividade; densidade; viscosidade e estabilidade. Em relação à maior parte das propriedades citadas, o proce-

dimento no laboratório é simples e similar aos protocolos utilizados para os produtos convencionais. É importante considerar que na impossibilidade de apresentação de algum teste ou informação, bem como no caso de pedido de isenção da apresentação, é possível propor justificativa técnica conforme previsto no Artigo 8º da IN Nº 3.

Uma exceção é a avaliação da estabilidade, uma vez que os protocolos para os produtos convencionais utilizam metodologias aceleradas e conseqüentemente temperaturas elevadas. Sendo os produtos microbiológicos constituídos de organismos vivos, normalmente não é possível submetê-los a temperaturas elevadas, pois podem ser inativados. A estabilidade acelerada utilizando, por exemplo, oito semanas a 40°C, pode funcionar para alguns produtos. Na maioria das vezes, temperaturas elevadas são impróprias e o mais adequado acaba sendo o estudo de estabilidade de prateleira por um período inicial de 90 dias e posteriormente 180 dias ou até dois anos. Diversos produtos têm curto prazo de viabilidade à temperatura ambiente, mas perduram em temperaturas baixas (4°C) por até dois anos. Considerando-se que a estabilidade é um importante requisito para o registro, para a eficiência do produto microbiológico e para a determinação do prazo de validade, bem como para as recomendações de transporte e armazenagem dos produtos biológicos, a melhoria da estabilidade desses produtos ainda é um desafio a ser perseguido pelos fabricantes.

### **Estudos toxicológicos em mamíferos**

Os estudos toxicológicos com AMCs têm como objetivo avaliar os potenciais efeitos indesejáveis em mamíferos e suas possíveis implicações para a saúde humana. A infectividade, a patogenicidade e a toxicidade são os aspectos a serem considerados, sendo

definidos pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos – USEPA – na norma OPPTS 885.0001 (ESTADOS UNIDOS, 1996h), como:

*Infectividade*: capacidade do agente em invadir as barreiras naturais do hospedeiro e persistir viável ou se multiplicar.

*Patogenicidade*: capacidade do agente em causar dano ou doença após infecção e depende da resistência ou suscetibilidade do hospedeiro.

*Toxicidade*: dano causado no hospedeiro pela toxina do agente, independentemente da infecção, da replicação ou da viabilidade do agente microbiano de controle.

Os requisitos toxicológicos em mamíferos são agrupados em fases, sendo que a Instrução Normativa Nº 3 requisita os seguintes testes toxicológicos na fase I: toxicidade/patogenicidade oral aguda, toxicidade/patogenicidade pulmonar aguda, toxicidade/patogenicidade intraperitoneal aguda (fungo ou protozoário) e toxicidade/patogenicidade intravenosa aguda (bactéria e vírus), sensibilização dérmica, toxicidade cutânea aguda e irritação/infecção ocular, irritação cutânea primária e cultura de células (para vírus). Condicionalmente também são requeridos os testes de irritação dérmica e cultura de células. Se nessa fase for observada presença de toxicidade ou infectividade, mas ausência de patogenicidade, são requeridos estudos de fase II: toxicidade oral aguda ( $DL_{50}$ ), toxicidade inalatória aguda ( $CL_{50}$ ) e toxicidade/patogenicidade subcrônica. A fase III abrange testes para solucionar problemas de suspeita ou confirmação de patogenicidade humana e inclui testes para avaliação de efeitos sobre reprodução/fertilidade e teratogenicidade, carcinogenicidade e resposta de imunidade celular. É importante ressaltar

que para esses testes que requerem uso de animais de laboratório, deve-se atender às exigências locais e internacionais de bem estar animal. Animais com sinais contínuos de severo desconforto e/ou dor em qualquer estágio do teste devem ser eutanasiados humanitariamente (GUIDE..., 2011). Estes estudos devem ser realizados com prévia aprovação do Comitê de Ética de Uso Animal, com base na Lei Nº 11.794, de 08.10.2008 (BRASIL, 2008), que regulamenta o inciso VII do § 1º do Art. 225 da Constituição Federal e na Resolução Normativa Nº 1, de 9 de julho de 2010, que dispõe sobre a instalação e o funcionamento das Comissões de Ética no Uso de Animais - CEUAs (BRASIL, 2012).

### **Testes agudos de toxicidade/patogenicidade em ratos**

Os estudos de toxicidade/patogenicidade são conduzidos de acordo com as normas da agência americana USEPA - Microbial Pesticide Test Guidelines – OPPTS 885.3000 (ESTADOS UNIDOS, 1996d). Uma publicação da Embrapa Meio Ambiente (CASTRO et al., 1999), embora contenha muitas informações para a condução desses estudos, foi descrita em forma de proposta. Esses estudos são realizados através de uma dose única da substância-teste em ratos (*Rattus norvegicus*), já que o rato albino é a espécie historicamente utilizada nos estudos de avaliação de toxicidade e é a espécie recomendada pelas autoridades regulatórias internacionais e brasileiras (IN 3 - IBAMA, ANVISA e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento).

Todos os estudos de toxicidade/patogenicidade aguda obedecem a um mesmo desenho experimental, com duração de 21 dias de observação e via de exposição variável. A substância-teste é avaliada administrando-se grupos de animais de ambos os sexos, em dose única de  $10^7$  a  $10^8$  unidades do AMC por animal pela via de escolha.

A dose única é considerada como dose desafio e de máximo risco. Portanto, se não forem encontrados efeitos com esta exposição, o agente é considerado seguro. São administrados vários grupos para sacrifício em diferentes tempos após a exposição à substância-teste: 3, 7, 14 e 21 dias. Dois grupos controle negativo são utilizados e não recebem tratamento: um grupo controle negativo é mantido no mesmo ambiente dos grupos experimentais e o outro grupo controle (testemunha) é mantido em sala separada. O grupo controle tratado com o AMC inativado pode ser útil para esclarecer propriedades tóxicas do agente. Os animais controle devem ser tratados da mesma forma que os animais que recebem o AMC. Ao final de cada período, os animais são eutanasiados e submetidos à necrópsia. O material biológico é coletado assepticamente e encaminhado para cultura microbiológica e quantificação do AMC. A partir dos dados obtidos, calcula-se o número de AMCs presentes na amostra analisada, estima-se a taxa de eliminação (“oclearance”) se confirma ou não a infectividade. Os resultados obtidos são, então, inseridos em um relatório com modelo definido.

Anteriormente ao estudo de toxicidade/patogenicidade, deve ser realizada uma validação do método de detecção/quantificação do AMC. O método previamente validado na amostra original deve ser validado para outras matrizes através de fortificação de amostras biológicas com o objetivo de avaliar a toxicidade, infectividade e patogenicidade dos AMCs. Amostras de sangue, fezes, conteúdo de ceco, pulmão e outros órgãos (fígado, baço, rins, linfonodos) dos animais de teste são fortificados com o AMC e recuperados para assegurar a validade do método nessas amostras quando forem coletadas no decorrer do estudo toxicológico. De acordo com OPPTS 885.2350 (ESTADOS UNIDOS, 1996b), a quantificação deve ser feita simultaneamente aos testes.

Os parâmetros de cada um dos testes de toxicidade/patogenicidade estão resumidos a seguir:

*Toxicidade/patogenicidade oral*

Requerido para bactérias, fungos, vírus e protozoários;

Via de exposição: oral (gavagem);

Inóculo mínimo:  $10^8$  unidades de AMC por animal;

Duração: 21 dias;

Recuperação em 1, 3, 7, 14 e 21 dias;

Coleta de material no 1º dia: fezes;

Coleta de material nos demais dias: sangue, órgãos e fezes;

Grupos controle: prateleira e testemunha e o AMC inativado.

*Toxicidade/patogenicidade pulmonar*

Requerido para bactérias, fungos, vírus e protozoários;

Via de exposição: intranasal ou intratraqueal;

Inóculo mínimo:  $10^8$  unidades de AMC por animal;

Duração: 21 dias;

Recuperação em 1, 3, 7, 14 e 21 dias;

Coleta de material no 1º dia: pulmão;

Coleta de material nos demais dias: sangue, órgãos e conteúdo de ceco;

Grupos controle: prateleira, testemunha e AMC inativado.

*Toxicidade/patogenicidade intraperitoneal*

Requerido para fungos ou protozoários;

Via de exposição: intraperitoneal;

Inóculo mínimo:  $10^7$  unidades de AMC por animal;

Duração: 21 dias;

Recuperação em 1, 3, 7, 14 e 21 dias;

Coleta de material no 1º dia: fezes;

Coleta de material nos demais dias: sangue, órgãos e fezes;

Grupos controle: prateleira, testemunha e AMC inativado.

*Toxicidade/patogenicidade intravenosa*

Requerido para bactérias e vírus;

Via de exposição: intravenosa;

Inóculo mínimo:  $10^7$  unidades de AMC por animal;

Duração: 21 dias;

Recuperação em 1, 3, 7, 14 e 21 dias;

Coleta de material no 1º dia: sangue;

Coleta de material nos demais dias: sangue, órgãos e conteúdo de ceco;

Grupos controle: prateleira, testemunha e AMC inativado.

## **Outros estudos toxicológicos em mamíferos**

### **Toxicidade cutânea aguda**

O objetivo do estudo de toxicidade cutânea aguda é fornecer informações sobre os danos potenciais consequentes de uma única aplicação dérmica do produto final na maior dose recomendada de 2.000 mg de produto formulado à base do AMC/kg de peso corpóreo. Esse estudo segue a norma OECD 402 (ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 1987) para produtos químicos praticamente sem qualquer modificação específica para produtos biológicos. A norma americana para o teste de toxicidade cutânea aguda com AMCs - OPPTS 885.3100 (ESTADOS UNIDOS, 1996a) - foi compatibilizada com a norma OECD. A USEPA aponta o uso do coelho albino como espécie preferencial a ser testada, embora não coloque restrição a outras espécies. Dez animais de ambos os sexos recebem o produto formulado sobre aproximadamente 10% da superfície do corpo e permanecem com o produto sobre a pele por 24 horas. Após a retirada do produto formulado à base do AMC da pele dos animais, esses são observados diariamente por um total de 14 dias. Ao final do período, os animais são eutanasiados e submetidos à necrópsia. Não há coleta de órgãos nesse protocolo, exceto quando se observa sinais de multiplicação do AMC que justificam a avaliação microbiológica dos tecidos.

### **Irritação ocular em coelhos**

O objetivo do estudo de irritação ocular é fornecer informações sobre os possíveis efeitos oculares decorrentes de uma única aplicação do produto final em olhos de coelhos albinos. Esse estudo segue a norma OECD 405 (ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 2002) para produtos quím-

nicos praticamente sem qualquer modificação específica para produtos biológicos. O animal utilizado é o coelho albino (*Oryctolagus cuniculus*). São testados três coelhos. O protocolo prevê a instilação de 0,1 mL do produto formulado em um dos olhos de cada coelho testado. Um coelho deve ser tratado de cada vez para assegurar que não haja efeito corrosivo do AMC antes do tratamento do próximo coelho. O olho não tratado é usado como controle. Antes de cada aplicação, os olhos dos coelhos devem ser avaliados macroscopicamente utilizando-se fluoresceína. A lavagem dos olhos tratados ocorre após 24 horas da aplicação em caso de produtos líquidos e após 1 hora em caso de produtos sólidos. As avaliações nos olhos dos coelhos são realizadas com a norma previamente citada e ocorrem após 1, 24, 48 e 72 horas. Se a irritação persistir, os olhos dos coelhos testados são avaliados após 7, 14 e 21 dias.

O estudo de irritação ocular é um dos estudos que mais comumente traz impacto na classificação toxicológica dos produtos à base de AMC. De acordo com a legislação brasileira vigente para produtos com finalidade agrícola (Portaria N° 3/1992), efeitos persistentes por mais de 24 horas e/ou observação de reações oculares de opacidade em qualquer tempo de avaliação classificam o produto como extremamente tóxico (classe I). Eventuais reações oculares, principalmente de opacidade, em 24 horas podem levar produtos à base de AMC a uma classificação toxicológica não condizente com sua natureza de produto de baixa toxicidade. Esse teste pode ser substituído por outro método alternativo em vista da ética da experimentação animal.

### **Sensibilização dérmica em cobaias**

O objetivo do estudo de sensibilização dérmica é fornecer informações sobre os possíveis efeitos sensibilizantes do produto final avaliada pelo aparecimento de edema e/ou eritema. Esse estudo

segue a norma OECD 406 (ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 1992) para produtos químicos praticamente sem qualquer modificação específica para produtos biológicos. A substância-teste deve ser aplicada pura ou diluída em veículo não tóxico na pele dos flancos dos animais. Trinta cobaias albinas (*Cavia porcellus*), adultas e sadias são divididas em dois grupos experimentais com 20 animais e controle com 10 animais. No período de indução são realizadas três aplicações de 6 horas no flanco esquerdo previamente depilado nos dias 0, 7 e 14. Para o grupo experimental, utiliza-se curativo com 0,5 g da substância-teste e para o grupo controle utiliza-se curativo de algodão com água deionizada. No dia 27 inicia-se o período de desafio. O curativo com substância-teste é aplicado no flanco não tratado previamente tricotomizado de todos os animais e mantido em contato com a pele por 6 horas. Aproximadamente 24 e 48 horas após a remoção do curativo, são realizadas avaliações para a presença de eritema e edema e eventuais sinais clínicos de toxicidade. No caso de não aparecimento de eritema e edema, a substância-teste é considerada como não sensibilizante.

Ressalta-se que, recentemente, o Conceia reconhece métodos alternativos ao uso de animais em atividades de pesquisa no Brasil, nos termos da Resolução Normativa Nº 17, de 03 de julho de 2014 e estabelece um prazo máximo de cinco anos para a adequação à nova norma (\*Nota dos Editores).

### **Estudos ecotoxicológicos**

O potencial dos AMCs em causar danos a organismos presentes nos diferentes ecossistemas deve ser avaliado independentemente do local de aplicação do produto biológico e da possível exposição de organismos não-alvo. Isso porque, quando um microrganismo é utilizado como agrotóxico, consideráveis quantidades do agen-

te podem não atingir o organismo-alvo e recair sobre o ambiente, ampliando a área e o número de espécies expostas. Nessa avaliação ecotoxicológica devem ser considerados os indicadores dos ecossistemas terrestre e aquático. Como representantes dos organismos não-alvo, a legislação brasileira requer estudos com aves, abelhas e organismos aquáticos (peixes e invertebrados de água doce). Outros organismos não-alvo são condicionalmente requeridos, incluindo minhocas.

De forma geral, os estudos ecotoxicológicos da fase I são desenhados de forma a expor os organismos não-alvo a uma dose máxima em única exposição, possibilitando uma chance máxima de expressão dos efeitos indesejáveis. A ausência de danos aos organismos não-alvo nessa fase indica um alto grau de confiança da não ocorrência de que qualquer efeito adverso no uso real do agente de controle. Se forem observados efeitos adversos nessa fase, o potencial de exposição do AMC é estimado através de estudos mais complexos.

### **Estudos no ecossistema aquático**

Sendo o ecossistema aquático um dos ambientes vulneráveis à entrada dos AMCs, uma das preocupações é estabelecer metodologias para avaliar o risco destes agentes em organismos aquáticos não-alvo. Na avaliação de risco desses organismos são sugeridos estudos com organismos representativos de diferentes níveis tróficos de cadeia alimentar, tais como organismos zooplânctônicos e vertebrados aquáticos. Na escolha das espécies são consideradas a facilidade de criação e manipulação em condições laboratoriais.

A metodologia proposta para a avaliação de risco de AMC no sistema aquático segue o esquema de fases utilizadas pela USEPA (ESTADOS UNIDOS, 1996f), nas quais os organismos-teste são

inicialmente submetidos a uma “dose máxima de risco de exposição” do AMC (fase I). Dada a alta concentração de unidade AMC utilizada nesta fase I, supõe-se que essa seja suficiente para ocasionar efeito adverso no organismo não-alvo se o agente possuir potencial de ocasionar infecção ou se ocorrer a presença de toxina. Se forem observados efeitos adversos nessa fase, estudos de dinâmica de populações na fase II são requeridos, nos quais se avalia quali e quantitativamente as condições propícias para o desenvolvimento do AMC, isto é, sua capacidade de produção e sobrevivência no sistema aquático através de variações de temperatura, pH, nutrientes, luz, oxigênio dissolvido ou de outras características físico-químicas do meio. Já nos estudos da fase III os riscos de exposição associados à situação mais próxima da realidade são mais precisamente avaliados e quantificados. Testes de fase IV são requisitados caso a caso.

### **Teste de toxicidade com peixes**

A norma americana para o teste de toxicidade com peixes OPPTS 885.4200 (ESTADOS UNIDOS, 1996f) recomenda o uso de duas espécies de peixes caso o AMC seja diretamente utilizado no ambiente aquático e de apenas uma espécie caso o uso do AMC não tenha exposição direta no ambiente aquático. A legislação brasileira descrita no Manual de Testes para Avaliação da Ecotoxicidade de Agentes Químicos” não especifica o uso de mais de uma espécie para estudos com organismos aquáticos (MANUAL..., 1988).

Considerando-se a expectativa de baixa toxicidade, apenas um grupo de 30 peixes pode ser testado na concentração máxima de risco de exposição que é de no mínimo  $10^6$  unidades/mL ou 1.000 vezes a dose máxima agrônômica. Adicionalmente, a substância-teste deve ser administrada por via oral através da incorporação no alimento durante o teste. A substância-teste deve ser diluída de

forma a se apresentar como uma solução aquosa para possibilitar a exposição direta dos organismos na água e o método utilizado para manter a concentração inicial ao longo da exposição deve ser descrito. O protocolo proposto pela Embrapa (JONSSON; MAIA, 1999) sugere o teste semi-estático, com renovação da solução de teste duas vezes por semana ou conforme a necessidade e análise da concentração do AMC na solução de teste pelo menos uma vez por semana. Dois controles negativos são recomendados, sendo um controle sem qualquer tratamento e um controle de água e AMC inativado por autoclavagem.

A norma americana OPPTS 885.4200 (ESTADOS UNIDOS, 1996f) requer a descrição detalhada dos métodos utilizados e dos resultados obtidos nos parâmetros químicos e microbiológicos da água e organismos-teste. Tendo-se fundamentado no protocolo da USEPA (ANDERSEN et al., 1989), onde se requer a detecção e quantificação do agente biológico nos tecidos, o protocolo da Embrapa sugere a homogeneização e plaqueamento destes últimos em meios de cultura apropriados. A duração do teste é de pelo menos 30 dias, sendo prorrogada caso efeitos tóxicos sejam observados. Nesse caso, doses menores devem ser testadas utilizando-se 10 peixes por grupo de teste com várias concentrações.

Os demais parâmetros, tais como aclimatação, luminosidade, critérios para efeitos tóxicos e outras informações relevantes ao teste devem ser reportados conforme requerido para produtos convencionais. No caso de não observação de efeitos tóxicos ou patogênicos ao final do teste, a CL50 (concentração letal média) pode ser considerada como sendo superior à máxima concentração testada, e o AMC pode ser considerado inócuo quanto à sua dose de máximo risco de exposição para o organismo-teste.

### Teste de toxicidade com *Daphnia*

A norma americana para o teste de toxicidade com invertebrados bentônicos - OPPTS 885.4240 (ESTADOS UNIDOS, 1996e) - recomenda o uso de duas espécies caso o AMC seja diretamente utilizado no ambiente aquático, e de apenas uma espécie caso o uso do AMC não tenha exposição direta no ambiente aquático. A legislação brasileira não especifica o uso de mais de uma espécie para estudos com organismos aquáticos. Portanto, uma única espécie é utilizada como representante dos invertebrados bentônicos.

Considerando-se a expectativa de baixa toxicidade, segundo a norma OPPTS 885.4240 (ESTADOS UNIDOS, 1996e), vinte invertebrados por grupo são avaliados se são testados vários grupos. Se testado somente um grupo de 50 *Daphnias* contendo cinco réplicas de 10 organismos pode ser testado na concentração máxima de risco de exposição que é de no mínimo  $10^6$  unidades/mL ou 1.000 vezes a dose máxima agrônômica. A substância-teste deve ser diluída de forma a se apresentar como uma solução aquosa para possibilitar a exposição direta dos organismos na água.

O método utilizado para manter a concentração inicial da substância ao longo do período de exposição deve ser descrito. O protocolo proposto por Jonsson e Maia (1999) sugere o teste semi-estático, ou seja, com renovação periódica da solução de teste, em períodos de aproximadamente 48 horas e também a análise da concentração do AMC na solução de teste uma vez por semana. A diferença obtida entre os resultados não deve ser superior a 30%. Dois controles negativos são recomendados, sendo um controle sem qualquer tratamento e um controle contendo água e AMC inativado por autoclavagem.

A norma americana OPPTS 885.4240 (ESTADOS UNIDOS, 1996e) requer a descrição detalhada dos métodos utilizados e dos resultados obtidos nos parâmetros químicos e microbiológicos da água

e organismos-teste. Similarmente ao requerido para peixes, o protocolo sugere procedimentos de análise e detecção de AMCs nos organismos através de processos de homogenização e plaqueamentos. A duração do teste é de pelo menos 21 dias, sendo prorrogada caso efeitos tóxicos sejam observados. Nesse caso, doses menores devem ser testadas utilizando-se 20 *Daphnias* por grupo no teste com várias concentrações. No caso de não observação de efeitos tóxicos ao final do teste, a  $CE_{50}$  (concentração efetiva média) do AMC pode ser considerada como sendo superior à máxima concentração testada.

### **Toxicidade aguda oral para aves**

A norma americana para o teste de toxicidade aguda oral para aves com AMC - OPPTS 885.4050 (ESTADOS UNIDOS, 1996c) - sugere preferencialmente o uso da codorna americana, não disponível no Brasil, mas permite o uso de outras espécies mediante justificativa. A espécie mais comumente utilizada no Brasil é a codorna japonesa (*Coturnix japonica*), que é a espécie recomendada por De Nardo et al. (1999) e outras publicações internacionais (LYNCH, 1995; ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 2010). Assim como nos demais testes ecotoxicológicos, o teste para aves na fase I é desenhado de forma a expor os organismos não-alvo a uma dose máxima em única exposição.

Segundo a norma americana OPPTS 885.4050 (ESTADOS UNIDOS, 1996c), no caso de uso da dose máxima do AMC, 30 codornas jovens são dosadas por via oral durante cinco dias. A dose máxima recomendada é definida pela concentração do AMC e o peso das aves testadas, no volume de 5 mL/kg de peso corpóreo (concentração do AMC x peso da ave x 5 mL/kg pc). Recomenda-se a utilização de três grupos controle de 10 aves cada: um grupo controle negativo não tratado, um grupo tratado com o AMC inati-

vado e um grupo tratado com o filtrado de culturas de produção dos AMCs.

A duração do teste é de no mínimo 30 dias, sendo prorrogada caso efeitos tóxicos sejam observados. Ao final do teste, as aves são sacrificadas e necropsiadas. Na etapa da necrópsia, atenção particular deve ser dada ao exame do fígado, coração, pulmão, sacos aéreos e trato gastrointestinal. Em caso de qualquer sinal de multiplicação do AMC, o tecido deve ser coletado e submetido à cultura para isolamento do AMC. No caso de não observação de efeitos tóxicos ao final do teste, a  $DL_{50}$  (dose letal média) do AMC pode ser considerada como sendo superior à dose máxima testada.

### Toxicidade para abelhas

Tanto a norma americana OPPTS 885.4380 (ESTADOS UNIDOS, 1996g), como as publicações da Embrapa Meio Ambiente (DE NARDO et al., 1999) sobre o teste de toxicidade para abelhas com AMC são muito sucintas. A espécie recomendada é a *Apis mellifera* e a via de exposição é dependente do modo de ação do AMC, podendo ser oral ou por contato. Cada experimento pode ser delineado para cada tipo específico de AMC, ou seja, caso-a-caso. Protocolos brasileiros sugerem que bactérias e vírus sejam testados por via oral, enquanto que fungos sejam testados pela via de contato. As doses não são estabelecidas. O período de teste recomendado é de 30 dias após a dosagem para observação das abelhas dos grupos controle e tratados. Embora a norma americana OPPTS 885.4380 (ESTADOS UNIDOS, 1996g) não mencione qualquer cuidado especial para a manutenção das abelhas em laboratório pelo período previsto de teste, De Nardo et al. (1999) menciona cuidados específicos para a obtenção de abelhas capazes de sobreviver em estufas a 34°C pela duração recomendada. Um grupo controle tratado com o AMC inativado deve ser paralelamente testado.

## Conclusão

A legislação específica para os AMCs no Brasil é relativamente recente, assim como o número de produtos microbiológicos registrados. De acordo com Bettiol et al. (2014), até novembro de 2013, o número de produtos microbiológicos registrados no Brasil era de 52, com expressivo aumento em relação a 2011. À medida que a demanda pelos produtos microbiológicos aumentar, a realização e avaliação dos estudos de laboratório deverão ser aprimoradas. Cabe aos envolvidos nesse processo (instituições de pesquisa, agências avaliadoras, laboratórios de contrato e empresas fabricantes) trabalharem para que os produtos microbiológicos passem a ser cada vez melhor conhecidos e mais utilizados no cenário de produtos agrícolas brasileiros. Outro aspecto a ser considerado é a carência de laboratórios de instituições públicas e privadas para a realização de estudos e testes toxicológicos e ecotoxicológicos dos efeitos dos AMCs .

## Referências

ANDERSEN, J.; EDWARDS, D. F.; HAZEL, W. J.; LEVIN, M. A.; PILSUCKI, R. W.; SCHNEIDER, W. R.; SJOBAD, R. D. **Pesticide assessment guidelines**: sub-division M: microbial pest control agents and biochemical pest control agents. Washington, DC: U.S. Environmental protection Agency, 1989. 203 p.

BETTIOL, W.; MAFFIA, L. A.; CASTRO, M. L. M. P. Control biológico de enfermidades de plantas en Brasil. In: BETTIOL, W.; RIVERA, M. C.; MONDINO, P.; MONTEALEGRE, J. R.; COLMENAREZ, Y. C. (Ed.). **Control biológico de enfermidades de plantas en América Latina y el Caribe**. Montevideo: Universidad de la República, 2014. p. 91-138.

BRASIL. Instrução normativa conjunta nº 3, de 10 de março de 2006. Estabelece normas específicas para fins de registro de produtos microbiológicos que se caracterizem como produtos técnicos, agrotóxicos e afins. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 15 mar. 2006. Seção 1, p. 23-25.

BRASIL. Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989. Dispõe sobre agrotóxicos, seus componentes e afins. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 11 jul. 1989. Seção 1, p. 11459-11460.

BRASIL. Lei n. 11.794, de 8 de outubro de 2008. Regulamenta o inciso VII do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 9 out. 2008. Seção I, p. 1.

BRASIL. Portaria conjunta [IBAMA/INMETRO] nº66, de 17 de junho de 1997. Estabelece critérios para credenciamento, por parte do INMETRO, de laboratórios nacionais e reconhecimento de laboratórios estrangeiros que realizam estudos físico-químicos, toxicológicos e ecotoxicológicos, para avaliação ambiental de produtos químicos, bioquímicos, biotécnicos e biotecnológicos, exigidos pelo IBAMA, de acordo com as Boas Práticas de Laboratórios (BPL). **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 3 jul. 1997. Seção 1, p. 14080.

BRASIL. Portaria conjunta [IBAMA/INMETRO] nº 1, de 29 de março de 2010. Estabelece Estabelecer que os estudos físico-químicos, toxicológicos, ecotoxicológicos, ou quaisquer outros que subsidiarem a avaliação de produtos agrotóxicos pelo IBAMA deverão ser realizados em instalações de teste reconhecidas e monitoradas de acordo com os Princípios das Boas Práticas de Laboratórios – BPL. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 abr. 2010. Seção 1, p. 90-91.

BRASIL. Resolução Normativa n. 1, de 9 de julho de 2010. Dispõe sobre a instalação e o funcionamento das Comissões de Ética no Uso de Animais (CEUAs). **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 5 set. 2012. Seção I, p. 6.

CAPALBO, D. M. F.; DE NARDO, E. A. B.; MORAES, G. J. de; OLIVEIRA, M. C. B. de; CASTRO, V. L. S. S. de. **Protocolo avaliação de agentes microbianos de controle de pragas para registro como biopesticidas**: uma proposta para os órgãos federais registrantes: informações sobre o produto e análise de resíduos. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 1999. 24 p. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 9).

CASTRO, V. L. S. S. de; CAPALBO, D. M. F.; MORAES, G. J. de; DE NARDO, E. A. B.; OLIVEIRA, M. C. B. de. **Protocolo avaliação de agentes microbianos de controle de pragas para registro como biopesticidas**: uma proposta para os órgãos federais registrantes: testes toxicopatológicos em mamíferos. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 1999. 39 p. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 10).

DE NARDO, E. A. B.; SA, L. A. N. de; CAPALBO, D. M. F.; MORAES, G. J. de; OLIVEIRA, M. C. B. de; CASTRO, V. L. S. S. de; WATANABE, M. A. **Protocolo avaliação de agentes microbianos de controle de pragas para registro como biopesticidas**: uma proposta para os órgãos federais registrantes: testes toxicopatológicos em aves, artrópodos benéficos, organismos de solo e plantas. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 1999. 67 p. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 12).

DUCHET, C.; LARROQUE, M.; CAQUET, T.; FRANQUET, E.; LAGNEAU, C.; LAGADIC, L. Effects of spinosad and *Bacillus thuringiensis israelensis* on a natural population of *Daphnia pulex* in field microcosms. **Chemosphere**, Oxford, v. 74, n. 1, p. 70-77, 2008.

ESTADOS UNIDOS. Environmental Protection Agency. **Microbial pesticide test guidelines**: OPPTS 885.3100: acute dermal toxicity/pathology. Washington, DC, 1996a. 6 p.

ESTADOS UNIDOS. Environmental Protection Agency. **Microbial pesticide test guidelines**: OPPTS 885.2350: analytical methods. Washington, DC, 1996b. 4 p.

ESTADOS UNIDOS. Environmental Protection Agency. **Microbial pesticide test guidelines**: OPPTS 885.4050: avian oral, tier I. Washington, DC, 1996c. 6 p.

ESTADOS UNIDOS. Environmental Protection Agency. **Microbial pesticide test guidelines**: OPPTS 885.3000: background: mammalian toxicity/pathogenicity/infectivity. Washington, DC, 1996d. 8 p.

ESTADOS UNIDOS. Environmental Protection Agency. **Microbial pesticide test guidelines**: OPPTS 885.4240: freshwater aquatic invertebrate testing, tier I. Washington, DC, 1996. 7 p.

ESTADOS UNIDOS. Environmental Protection Agency. **Microbial pesticide test guidelines**: OPPTS 885.4200: freshwater fish testing, tier I. Washington, DC, 1996f. 6 p.

ESTADOS UNIDOS. Environmental Protection Agency. **Microbial pesticide test guidelines**: OPPTS 885.4380: honey bee testing, tier I. Washington, DC, 1996g. 4 p.

ESTADOS UNIDOS. Environmental Protection Agency. **Microbial pesticide test guidelines**: OPPTS 885.0001: overview for microbial pest control agents. Washington, DC, 1996h. 20 p.

GENTHNER, F. J.; CRIPE, G. M.; CROSBY, D. J. Effect of *Beauveria bassiana* and its toxins on *Mysidopsis bahia* (Mysidaceae). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 26, n. 1, p. 90-94, 1994.

GRISOLIA, C. K.; OLIVEIRA-FILHO, E. C.; RAMOS, F. R.; LOPES, M. C.; MUNIZ, D. H. F.; MONNERAT, R. G. Acute toxicity and cytotoxicity of *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus sphaericus* strains on fish and mouse bone marrow. **Ecotoxicology**, London, v. 18, n. 1, p. 22-26, 2009.

GUIDE to the care and use of laboratory animals. 8th ed. Washington, DC: National Research Council, 2011. 220 p.

INMETRO (Brasil). **Princípios das boas práticas de laboratório – BPL**: rev. 02, setembro/2011. Rio de Janeiro, 2011. p. 1-19.

JONSSON, C. M.; MAIA, A. de H. N. **Protocolo avaliação de agentes microbianos de controle de pragas para registro como biopesticidas**: uma proposta para os órgãos federais registrantes: testes toxicopatológicos em organismos não-alvo do ambiente aquático: organismos zooplanctônicos, fitoplanctônicos e vertebrados. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 1999. 33 p. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 11).

LYNCH, M. R. **Procedures for assessing the environmental fate and ecotoxicity of pesticides**. Pensacola: SETAC, 1995. 54 p.

MANUAL de testes para avaliação da ecotoxicidade de agentes químicos. Brasília, DF: IBAMA, 1988. 351 p.

OLIVEIRA-FILHO, E. C. Avaliação da periculosidade ambiental de bioinseticidas como uma nova perspectiva para a ecotoxicologia no Brasil. **Journal of Brazilian Society of Ecotoxicology**, Rio Grande, v. 3, n. 1, p. 1-7, 2008.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **OECD guidelines for testing of chemicals 223**: avian acute oral toxicity test. Paris, 2010. 25 p.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **OECD guidelines for testing chemicals 406**: skin sensitization. Paris, 1992. 9 p.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **OECD guidelines for testing chemicals 405**: acute eye irritation/corrosion. Paris, 2002. 14 p.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **OECD guidelines for testing chemicals 402**: acute dermal toxicity. Paris, 1987. 7 p.

OLIVEIRA-FILHO, E. C.; FARIA, M. de R. de; CASTRO, M. L. M. P. de. **Regulamentação de produtos biológicos para o controle de pragas agrícolas**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2004. 34 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos, 119).

## **Análise do Mercado de Defensivos Agrícolas Naturais**

Danilo S. Pedrazzoli e Gustavo R. Herrmann

---

### **Introdução**

A utilização de Agentes de Controle Biológico (ACB) para a proteção de plantas contra pragas e doenças tem aumentado significativamente nos últimos anos no Brasil. Tal fato pode ser creditado a alguns fatores, dentre eles a pressão da sociedade em busca de alimentos mais saudáveis e com menor volume de resíduos nocivos ao ser humano. Por outro lado, a crescente preocupação com a preservação ambiental e a consequente necessidade de diminuição do uso de agroquímicos convencionais também mostra-se relevante. Neste contexto, a eficiência no controle de tais pragas e doenças pelos ACBs produzidos em escala comercial e a demanda por produtos orgânicos, com certificação de origem comprovada, também contribuiu para uma maior procura pelo controle biológico bem como facilitou a sua divulgação.

A maioria dos pesquisadores brasileiros da área de proteção de plantas conhece, com propriedade, os benefícios dos ACBs, mas devido ao sistema agrícola vigente no país, caracterizado por extensas áreas com a mesma cultura, e a cultura do agricultor brasileiro em relação ao uso do controle químico (MORANDI; BETTIOL, 2009), a alternativa do controle biológico acaba perdendo terreno na competição com agroquímicos convencionais. Quando se compara o volume e as projeções de vendas de agrotóxicos e ACBs no

Brasil, observa-se larga vantagem para os primeiros, embora a tendência do mercado mundial é de maior crescimento dos produtos à base de agentes de biocontrole (BETTIOL et al., 2014; COTES, 2014; GLOBAL..., 2014).

Neste capítulo são apresentados valores comparativos destes mercados, com seus respectivos potenciais de crescimento. No Brasil, à semelhança do que ocorre há mais tempo em outros países, existem empresas especializadas na produção e comercialização de inimigos naturais, incluindo parasitóides, predadores e microrganismos (fungos, bactérias, leveduras e vírus). Muitas dessas empresas estão localizadas dentro das fazendas, portanto produzindo para uso próprio, mas também existem pequenas empresas familiares que, por questão de logística, comercializam os ABCs em áreas mais restritas não comercializando de forma satisfatória os agentes biológicos para todo o país. Outras são laboratórios de usinas de açúcar e álcool, cujo destino da produção se limita ao uso próprio. É o caso da criação de *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis* (broca-da-cana) e *Metarhizium anisopliae* para o controle de *Mahanarva fimbriolata* (cigarrinhas-das-raízes) (ALVES et al., 2008; CARVALHO; PEDRAZZOLI, 2006; ).

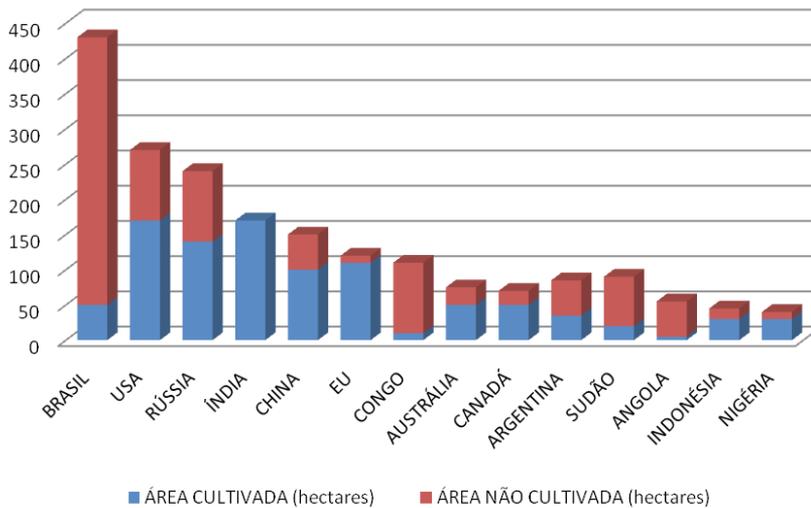
Com o crescente aumento da demanda por tais organismos, o mercado brasileiro começa a receber empresas dotadas de alta tecnologia de pesquisa e produção, entre elas multinacionais especializadas no controle biológico. Agraquest, Novozymes, Becker-Undenwood, Certis, Improcop, Biobest e Koppert são nomes de peso no mercado internacional de proteção biológica de plantas que estão presentes no Brasil. Obviamente que o potencial desse mercado atrai empresas sem grande qualificação, motivadas pelas possibilidades de gerar lucro a curto prazo. Com isso, pode ser disponibilizado para agricultores produtos de baixa qualidade levando ao descrédito produtos biológicos com alto potencial, como ocorreu

com *Metarhizium anisopliae* na década de 70. O fungo produzido à época em pequenas empresas não possuía o devido controle de qualidade, e quase foi esquecido pelo usuário devido à errática eficiência. Graças a trabalhos, como o desenvolvido na ESALQ/USP pelo professor Sérgio Batista Alves, com a seleção de isolados do patógeno, o produto voltou a ser utilizado em larga escala para o controle de cigarrinhas em cana-de-açúcar e pastagens (LOPES, 2009).

### **Disponibilidade de Produtos Biológicos no Mercado Brasileiro**

Desde o início dos estudos com controle biológico no Brasil (GOMES, 1962) as pesquisas foram direcionadas para o desenvolvimento de produtos, acentuando essa linha na década de 1970, dando origem às primeiras formulações e ao surgimento de empresas comercializadoras de agentes de controle biológico na cultura da cana-de-açúcar (PARRA, 2001).

O Brasil é o país com a maior área agricultável do mundo, e mesmo assim ocupa apenas 50 milhões dos 400 milhões de hectares disponíveis (Fonte: FAO (2015)) (Figura 1), evidenciando o potencial da demanda por produtos à base de agentes de biocontrole.

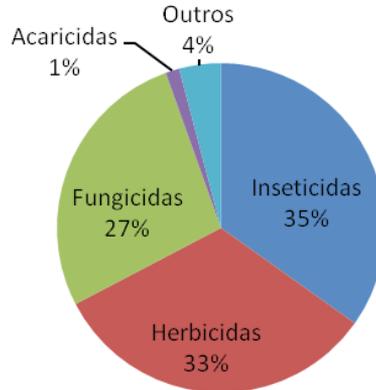


**Figura 1.** Área agrícola cultivada vs não cultivada (disponível) entre os países com maior área agrícola no mundo.

Fonte: FAO (2015).

Da mesma maneira que se tem um campo vasto para a utilização de ACBs, o sistema agrícola brasileiro é baseado em monoculturas com extensas áreas plantadas, e em muitos casos com plantios sucessivos. Por ser um país tropical, o Brasil conta com alta pressão de pragas e patógenos na agricultura, fato que ajudou no desenvolvimento de um grande mercado consumidor de agrotóxicos. No ano de 2008, alcançamos a posição de primeiro lugar no ranking mundial, ultrapassando os EUA, que encabeçavam a lista há muitas décadas (Figura 2).

## Mercado de agrotóxicos no Brasil (2011 - R\$14,07 bilhões)



**Figura 2.** Mercado brasileiro de agrotóxicos de 2011.

Fonte: Bettiol (2011).

O número de produtos biológicos comercializados no Brasil começou a crescer a taxas menos modestas (Tabela 1) com a entrada de novos atores nacionais e internacionais no mercado (BETTIOL et al., 2014). Além disso, a necessidade iminente das empresas tradicionais de químicos de aproveitarem esses novos nichos de mercado fez com que elas começassem a registrar produtos de baixa toxicidade e buscar tecnologia de biológicos. Dessa forma, tem aumentado seu portfólio e fortalecido sua posição e discurso de alinhamento à sustentabilidade de suas linhas de produtos agrícolas.

**Tabela 1.** Lista de Agentes de Controle Biológico comercializados no Brasil, com respectivos números de produtos registrados (AGROFIT/Mapa) e não registrados (N) em 2011.

Classe	Agente	Registro
Parasitoide (84 produtores)	<i>Cotesia flavipes</i>	5
	<i>Trichogramma galloi</i>	2
	<i>Trichogramma atopovirilia</i>	N
	<i>Telenomus podisi</i>	N
	<i>Trissolcus basal</i>	N
	<i>Trichogramma pretiosum</i>	N
Predador (3 produtores)	<i>Neoseiulus californicus</i>	2
	<i>Cryptolaemus montrouzieri</i>	N
	<i>Orius insidiosus</i>	N
	<i>Phytoseiulus macropilis</i>	N
	<i>Podisus nigrispinus</i>	N
	<i>Stratiolaelaps scimitus</i>	N
Nematoide (2 produtores)	<i>Steinernema puertoricense</i>	1
	<i>Beddingia siricidicola</i>	N
Microbiológico (40 produtores)	<i>Baculovirus anticarsia</i>	3
	<i>Aspergillus flavus</i>	1
	<i>Bacillus licheniformis</i>	N
	<i>Bacillus pumilus</i>	1
	<i>Bacillus subtilis</i>	1
	<i>Bacillus thuringiensis</i>	9
	<i>Baculovirus</i> (lagarta do álamo)	N
	<i>Beauveria bassiana</i>	2
	<i>Clonostachys rosea</i>	N
	<i>Isaria sp.</i>	N
	<i>Lecanicillium lecanii</i>	N
	<i>Lecanicillium longisporum</i>	N
	<i>Metarhizium anisopliae</i>	3
	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	N
	<i>Pochonia chlamidosporia</i>	N
	<i>Trichoderma asperellum</i>	2
<i>Trichoderma harzianum</i>	1	
<b>Total Produtos: 31</b>		
<b>Total Registrados: 33</b>		
<b>Total Empresas: 100*</b>		

\* maioria dentro de usinas produzindo *Metarhizium* + *Cotesia* na mesma unidade

O número de produtos disponíveis no mercado, levando em consideração ACBs para controle de pragas (inseticidas/acaricidas/nematicidas) e doenças (fungicidas/bactericidas) é discrepante em relação aos químicos. Isso indica a necessidade de uma nova segmentação dentro do setor de proteção de plantas, específica para agentes macro e microbianos de controle biológico. No ano de 2011 havia 1352 pesticidas químicos registrados no Brasil, sendo somente 27 agentes de biocontrole. Já em 2012 o número de pesticidas químicos era de 1357 e os biopesticidas era de 31. Em novembro de 2013 o número de biopesticidas registrados saltou para 52 (BETTIOL et al., 2014; AGROFIT, 2014). Comparando esses números observa-se ainda uma baixa competição dos bioagentes com os produtos químicos, fato esse também observado em outros países (BETTIOL et al., 2014). Por outro lado, não se pode deixar de levar em consideração a oportunidade de mercado que se abre com a adoção de novas técnicas de cultivo, como o Manejo Integrado de Pragas e Doenças que, além de outras recomendações, combina diferentes classes de produtos. Essa é uma prática muito utilizada fora do Brasil, principalmente para doenças de final de ciclo e em pós-colheita, visando diminuir os problemas com resíduos de pesticidas químicos e respeitar as carências dos produtos até que cheguem ao consumidor final.

No Brasil, a cana-de-açúcar e a soja são responsáveis pelos principais programas de controle biológico do mundo (LOPES, 2009; BETTIOL et al., 2014), como por exemplo:

- » Cana-de-açúcar: *Metarhizium anisopliae*, utilizado em, aproximadamente, 3 milhões de hectares para controle de *Mahanarva fimbriolata*;
- » Cana-de-açúcar: *Cotesia flavipes*, utilizado em, aproximadamente, 3,2 milhões de hectares para controle de *Diatraea saccharalis*;

- » Soja: *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma asperellum*, utilizados em, aproximadamente, 2 milhões de hectares para controle de *Sclerotinia sclerotiorum*.

Consequentemente, essas duas culturas detêm os maiores volumes de comercialização de ACBs e apresentam um constante crescimento.

### **Regulamentação vs Comercialização**

O atual regime regulatório de ACBs pertence à mesma legislação dos agrotóxicos convencionais (Lei 7.802 de 11 de julho de 1989 e Decreto 4.074 de 04 de janeiro de 2002). A diferenciação dos dois grupos de produtos, ACBs e pesticidas, se dá através de Instruções Normativas do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Mapa, que dispensam os ACBs de algumas exigências específicas de químicos. Há o consenso entre empresas, pesquisadores e membros do governo de que o crescimento do setor será realmente efetivado quando forem criadas regras e leis específicas para o setor de biológicos.

No ano de 2011, o Mapa publicou o Ato nº 29, de 07 de julho de 2011, que criou regras isoladas e distintas para parasitoides, predadores, nematoides entomopatogênicos e organismos produzidos pela técnica de inseto estéril. A recomendação agrícola desses organismos passou a ser apenas para alvo biológico, independente da cultura de ocorrência. O ato também retirou a exigência dos rótulos dos produtos serem estampados com o símbolo da “caveira e tibia cruzadas” e com os dizeres “CUIDADO VENENO”. Contemplou tanto produtos já registrados quanto os novos processos. Medidas como essa estimulam a adoção do controle biológico no país e a extensão dessa política para outros bioagentes, como os microbiológicos, incentivando o uso de ACBs de forma mais generalizada.

Outro avanço recente quanto à desburocratização do registro de produtos biológicos foi dado com a criação da classificação dos PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS COM USO APROVADO PARA A AGRICULTURA ORGÂNICA, previstos na Lei de Orgânicos (Lei nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003 e no Decreto nº 6.323, de 27 de dezembro de 2007), posteriormente regulamentados pela Instrução Normativa Conjunta – INC – nº 1 de 24 de maio de 2011. A partir daí, com a publicação da INC nº2 de 02 de junho de 2011, foram colocados três agentes de controle biológico na lista, sendo dois parasitóides (*Cotesia flavipes* e *Trichogramma galloi*) e um ácaro predador (*Neoseiulus californicus*). Novos organismos deverão ser inseridos nessa “LISTA POSITIVA”, que leva em consideração cinco pontos principais de avaliação:

### **1. Caracterização biológica do organismo**

- » Identificação biológica detalhada do organismo
- » Distribuição geográfica
- » Local de coleta ou criação em laboratório
- » Deposição de espécimes em coleção reconhecida

### **2. Efeitos na saúde humana e animal**

- » Informações detalhadas sobre possíveis riscos à saúde humana e animal quando da introdução do organismo na área de controle (alergia, irritações, vetores de doenças)

### **3. Destino e comportamento ambiental**

- » Identificação de riscos potenciais ao meio ambiente, como:
  - Informações disponíveis sobre inimigos naturais do organismo alvo na área de liberação;

- Alcance e distribuição potencial do hospedeiro na área de liberação;
  - Efeitos a organismos não alvos;
  - Efeitos potenciais indiretos nos organismos que dependem das espécies alvos e não alvos;
  - Efeitos diretos ou indiretos causados à espécies ameaçadas ou em extinção;
  - Possibilidades dos organismos tornarem-se vetores de doenças causadas por vírus ou microrganismos;
- » Informações conhecidas a respeito do alcance/especificidade do hospedeiro
  - » Utilização prévia em programas de controle biológico e efeitos no meio ambiente
  - » Procedimentos a serem seguidos, caso contaminantes ou hiperparasitas forem detectados
  - » Procedimento para a destruição do organismo, caso necessário

#### **4. Controle de qualidade dos organismos produzidos em laboratório**

- » Descrição do ambiente físico proposto para a criação dos organismos (instalações)
- » Detalhamento da dieta adotada para a manutenção das colônias, e
- » Capacidade de postura, eclosão, peso de pupas/formas juvenis e porcentagem de deformação de pupas/juvenis e adultos em, pelo menos, duas gerações sucessivas.

## 5. Eficiência e praticabilidade

- » Propósito da utilização
- » Benefícios potenciais na utilização do organismo.

A lista de referência começou contemplando somente macrorganismos, mas fungos, vírus e bactérias já estão em processo de inclusão. Alguns desses microrganismos são utilizados na agricultura há décadas, sem evidências de problemas ao meio ambiente e ao homem.

Juntamente com o crescimento do mercado de ACBs, o número de empresas produtoras aumenta significativamente. No ano de 2007, elas criaram a Associação Nacional das Empresas de Controle Biológico (ABCBio), com o objetivo de agregar o setor e representá-lo perante aos órgão de registro, defender seus direitos e promover o controle biológico. Tirar empresas da ilegalidade e propor melhorias no sistema de registros vigente são fatores importantes, mas uma das principais ações da ABCBio, em conjunto com seu Comitê Técnico Científico, será o monitoramento da qualidade dos produtos no pós-registro.

Diferentemente dos produtos químicos tradicionais, os biológicos são comercializados por meio de vendas técnicas, em sua maioria diretas. Um dos principais fatores de insucesso desse negócio é a falta de qualidade ou características técnicas dos produtos, que não garantem a sobrevivência ou a viabilidade dos organismos para que cheguem ativos ao destino final (MORANDI; BETTIOL, 2009). Protocolos de controle de qualidade estão sendo desenvolvidos e revisados pelo Comitê, os quais as empresas devem seguir, para que garantias mínimas sejam atribuídas aos seus produtos, com constantes análises por parte da ABCBio. Este processo é moroso e se encontra em fase de implantação. O objetivo final desse processo de controle de qualidade é a implementação de um “selo de

qualidade” por parte da ABCBio, para que os produtos comercializados sejam facilmente identificados pelos usuários. Além disso, programas de incentivo, com base em políticas públicas específicas e programas de treinamentos envolvendo universidades e/ou empresas, aumentariam a credibilidade da técnica.

## Tendências

Historicamente os valores de participação dos produtos biológicos no mercado de defensivos químicos giram em torno de 1% do valor total (BETTIOL; 2011), mas com a maior oferta de produtos para diferentes alvos biológicos, esta participação tende a crescer (BETTIOL et al., 2014). Somadas as vendas de *Metarhizium anisopliae*, *Trichoderma harzianum*, *T. asperellum*, *Trichogramma galloi*, *Cotesia flavipes* e *Baculovirus anticarsia*, os produtos com maior volume em área e escala, em conjunto com o produto biológico mais antigo registrado no Brasil, *Bacillus thuringiensis*, a participação média dos ACBs, no mercado brasileiro, situa-se em torno de 3% do mercado (BETTIOL et al., 2014). Em nível global o mercado de pesticidas químicos e biopesticidas é projetado para 2019 em US\$76,8 bilhões para os pesticidas químicos e US\$6,9 bilhões para os biopesticidas. Entretanto, a taxa esperada de crescimento para os biopesticidas é de 13,9% contra 5,7% para os químicos (GLOBAL..., 2014).

Com os incentivos do governo em função da demanda da sociedade, implantação de sistemas de rastreamento e certificados de origem adotados pelas grandes redes de supermercados, apoio da academia no maior número de pesquisas com controle biológico e a profissionalização das empresas, o futuro do controle biológico no Brasil é promissor, não só nos números, mas também na qualidade, uma vez que a sua utilização em cultivos extensivos deverá ser crescente, exigindo que sua eficiência seja maior.

## Referências

ALVES, S. B.; LEITE, L. G.; BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J. E. M.; MARQUES, E. J. Produção massal de fungos entomopatogênicos 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. 215-234.

BETTIOL, W. Biopesticide use and research in Brazil. **Outlooks on Pest Management**, Hemel Hempstead, v. 22, n. 6, p. 280-283, 2011.

BETTIOL, W.; MAFFIA, L. A.; CASTRO, M. L. M.P. Control biológico de enfermedades de plantas en Brasil. In: BETTIOL, W.; RIVERA, M. C.; MONDINO, P.; MONTEALEGRE, J. R.; COLMENÁREZ, Y. (Ed.). **Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe**. Montevideo: Facultad de Agronomía, Universidad de la Republica, 2014. p. 91-138.

COTES, A. M. Control biológico de enfermedades de plantas en Colombia. In: BETTIOL, W.; RIVERA, M. C.; MONDINO, P.; MONTEALEGRE, J. R.; COLMENÁREZ, Y. (Ed.). **Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe**. Montevideo: Facultad de Agronomía, Universidad de la Republica, 2014. p. 169-180.

FAO. **FAOSTAT**. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/>>. Acesso em: 05 nov. 2015.  
GLOBAL markets for biopesticides. Welesley: BCC Research, 2014. Disponível em: <<http://www.reportlinker.com/p01414091/Global-Markets-for-Biopesticides.html>>. Acesso em: 05 nov. 2015.

GOMES, J. Histórico do controle biológico no Brasil. **Boletim do Instituto de Ecologia e Experimentação Agrícolas**, Rio de Janeiro, v. 21, p. 89-97, 1962.

LOPES, R. B. A. Indústria no controle biológico: produção e comercialização de microrganismos no Brasil. In: BETTIOL, W; MORANDI, M. A. B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna, Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 15-28.

MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 7-14.

PARRA, J. R. P. Comercialização de parasitóides e predadores no Brasil: um desafio para todos. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 7, 2001, Poços de Caldas. **Anais...** Lavras: UFLA; Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 2001. 1 CD ROM.

PEDRAZZOLI, D. S.; CARVALHO, D. R. Comercialização de *Trichogramma* no Brasil. In: PINTO, A. de SENE; NAVA, D. E.; ROSSI, M. M.; MALERBO-SOUZA, D. T. (Ed.). **Controle biológico de pragas na prática**. Piracicaba: CP2, 2006. p. 241-246.

# Solos Supressivos e o Controle de Doenças de Plantas

Rodrigo Mendes

---

## Introdução

Os solos supressivos são definidos como solos nos quais um patógeno está presente, mas não causa doença em um hospedeiro suscetível, mesmo que os fatores ambientais sejam favoráveis ao desenvolvimento da doença (COOK; BAKER, 1974; HAAS; DÉ-FAGO, 2005; HUBER; SCHNEIDER, 1982). O controle biológico de patógenos de solo ocorre naturalmente em situações onde um fitopatógeno não consegue se estabelecer ou causar doença em um determinado campo de cultivo devido à sua microbiota natural. Um exemplo clássico deste tipo de controle biológico de ocorrência natural é o declínio da doença *take-all*, causada por *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (WALKER, 1972) em trigo cultivado em monocultura. Os sintomas de *take-all* foram reconhecidos e bem caracterizados em 1852 no sul da Austrália, tornando-se um exemplo clássico de doença de solo e objeto de extensivos estudos. Porém, foi apenas depois de um século, no final da década de 1960, que o declínio espontâneo dos níveis da doença em monocultura de trigo foi alvo de investigação. A partir de então, a demonstração da supressividade às doenças em diferentes locais e culturas abriu uma grande oportunidade para a exploração deste fenômeno para o controle de doenças para as quais não existe resistência ou tratamento químico e em situações onde a rotação de cultura não é viável.

O controle biológico ocorre naturalmente na natureza, seja devido aos solos supressivos, os quais contêm microrganismos antagonistas ao patógeno ou por causa da inoculação natural de antagonistas antes ou após o ataque do patógeno a uma planta suscetível. Em alguns casos os microrganismos antagonistas podem ser linhagens avirulentas do mesmo patógeno que inibem o desenvolvimento do patógeno pela competição por recursos, como acontece na hipovirulência. Em alguns casos, plantas superiores são capazes de reduzir a quantidade de inóculo liberando no solo substâncias tóxicas ao patógeno. Agricultores, orientados pelos resultados de pesquisa, têm aumentado seus esforços em tirar vantagem de tais mecanismos de antagonismo naturais e desenvolver estratégias pelas quais o controle biológico pode ser efetivamente usado contra diversas doenças de plantas.

Os patógenos de solo podem ser fungos, oomicetos, bactérias ou nematoides. Eles residem no solo por períodos curtos ou longos e sobrevivem nos resíduos das plantas ou livres em estado de latência até serem alcançados por exsudados de raízes permitindo-os crescerem. Então, escapando da competição com outros organismos os patógenos infectam as raízes e podem permanecer no interior da planta até a morte do hospedeiro, bem como sair e infectar outras partes da raiz ou outras raízes. As plantas infectadas por patógenos de solo podem sofrer de vários sintomas, como por exemplo, podridão da raiz, escurecimento da raiz, murcha, nanismo e *damping-off*. As perdas devido a patógenos de solo podem ser prevenidas até certo ponto por meio da rotação de cultura, utilização de sementes livres do patógeno, controle químico, solarização do solo, aplicação de vapor, entre outras técnicas de manejo. Porém, como isso nem sempre é possível por motivos econômicos ou operacionais, os patógenos de solo podem apresentar efeitos devastadores no campo e em cultivos de casa de vegetação.

É interessante notar que o cultivo contínuo de uma mesma planta em um determinado ambiente deveria favorecer a adaptação de patógenos, tanto de órgãos aéreos como patógenos de solo; porém, curiosamente a seleção natural produziu muito mais exemplos de resistência genética de plantas aos patógenos de órgãos aéreos, quando comparado à resistência aos patógenos de solo. Esta observação sugere que a pressão de seleção imposta por patógenos de solo pode favorecer uma estratégia de defesa diferente, na qual, durante a monocultura, as plantas apresentem a habilidade de estimular populações de microrganismos da rizosfera que são antagonistas aos seus patógenos (COOK et al., 1995). Assim sendo, o entendimento dos mecanismos que governam a natureza dos solos supressivos poderia ajudar no desenvolvimento de estratégias de biocontrole, nas quais as plantas se defendem dos patógenos de solo por meio do recrutamento ativo de antagonistas na rizosfera.

### **A natureza microbiológica dos solos supressivos**

Atualmente, a natureza microbiológica dos solos supressivos é bem estabelecida, porém, na década de 1970 havia apenas um conjunto de teorias, com base em pesquisas realizadas no declínio em *take-all* de trigo (conhecida como mal-do-pé no Brasil), as quais eram complementares em diversos aspectos e que compartilhavam o mesmo conceito de antagonismo microbiano contra *G. graminis* (BRUEHL, 1975). Uma das teorias postulava que a dominância de um inóculo fúngico por si só induzia uma reação antagônica altamente específica com ele mesmo; assim, antibióticos produzidos por uma microbiota balanceada antagonizavam o patógeno em sua fase parasítica e saprofítica (GERLAGH, 1968). Outro grupo de pesquisadores sugeria que a redução da capacidade de infecção por parte do patógeno era o resultado da resposta da hifa do fungo às raízes do hospedeiro devido ao desenvolvimento de uma

microbiota bacteriana na rizosfera, possivelmente causada pela ação de antibióticos produzidos pela microbiota (POPE; JACKSON, 1973). Outro ponto de vista considerava que o antagonismo microbiano específico se desenvolvia na rizosfera depois da infecção do hospedeiro em resposta ao micélio parasítico. Muitos ataques do patógeno aumentavam a quantidade de tecidos vegetais mortos e sua comunidade antagonica associada, especialmente durante a senescência do hospedeiro. Desse modo, o aumento dos antagonistas diminuía a sobrevivência do inóculo e sua infectividade pela inibição da ramificação da hifa do patógeno (VOJINOVIC, 1973). E, finalmente, o grupo de Rothamsted sugeriu que o declínio de *take-all* em trigo operava por meio de mudanças na microbiota do solo em resposta ao progresso da doença pela modificação do ambiente nutricional nas proximidades da raiz, possivelmente pela mudança da proporção  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ -N na rizosfera (BROWN et al., 1973).

Embora, ainda poucos mecanismos em solos supressivos são claramente conhecidos, atualmente um conjunto de observações experimentais é utilizado para se caracterizar a natureza microbiológica de um solo supressivo; assim, as quatro observações chaves estabelecidas para resolver a complexidade deste intrigante fenômeno são:

1. Primeiramente, certos solos supressivos, quando pasteurizados, por exemplo, usando calor úmido a 60°C por 30 minutos, perdem sua capacidade de suprimir doenças. Outros tratamentos antimicrobianos mais severos, tais como, radiação gama ou autoclave apresentam o mesmo efeito.
2. Outra observação experimental é que a supressão é transferível. Um inóculo de 0,1 a 10% de solo supressivo introduzido no solo conducente pode resultar na supressão da doença. A sensibilidade aos tratamentos antimicrobianos mais a transferibilidade indicam que a supressão da doença é resultante da

atividade microbiana dos organismos do solo que atuam contra os patógenos. É importante notar que a transferibilidade não é uma característica obrigatória para se designar um solo como sendo supressivo.

3. A terceira observação experimental é que a redução do pH do solo adicionando  $H_2SO_4$  aumenta a suscetibilidade da planta à murcha causada por *Fusarium*. Essa observação revela a importância dos componentes do ambiente do solo, tais como, a umidade, temperatura, fertilização, tipos de argila e o conteúdo íon-mineral do solo e seus efeitos no sucesso da supressão a doenças.
4. Vários anos de monocultura podem induzir a supressão de doenças em alguns solos, como acontece no caso do declínio de *take-all* em trigo.

### Exemplos de solos supressivos

Muitos patógenos de solo, tais como, *Fusarium oxysporum* (agente causal de murcha vascular), *Gaeumannomyces graminis* (agente causal de *take-all* em trigo), *Phytophthora cinnamomi* (agente causal de podridão de raiz de várias frutíferas e espécies florestais), *Pythium* spp. (agente causal de *damping-off*) e *Heterodera avenae* (nematoide de cisto em aveia), se desenvolvem e causam severas doenças em alguns solos; estes são designados como solos conducentes (AGRIOS, 1977). No entanto, eles se desenvolvem muito menos e são menos agressivos em solos supressivos. Os mecanismos pelos quais solos são supressivos a diferentes patógenos não estão claros, envolvem fatores bióticos e abióticos e variam de acordo com o patógeno. Porém, na maioria dos casos, aparentemente, eles operam primariamente pela presença nestes solos de um ou vários microrganismos antagonistas ao patógeno. Tais an-

tagonistas não permitem o patógeno alcançar níveis populacionais suficientes para causar doenças severas por meio da produção de antibióticos, enzimas líticas, competição por alimento, ou por parasitismo direto do patógeno.

Vários tipos de microrganismos antagonistas foram descobertos no aumento da supressividade de solos, sendo que os fungos mais comuns são, *Trichoderma*, *Penicillium* e *Sporidesmium*, e bactérias dos gêneros *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Streptomyces*. O solo supressivo, quando adicionado ao solo conducente, pode reduzir o nível de doença pela introdução de antagonistas ao patógeno. Por exemplo, solo que recebeu solo contendo uma espécie de *Streptomyces* antagonista a *Streptomyces scabiei*, o agente causal de sarna da batata, resultou em tubérculos de batata significativamente livres dos sintomas da doença (LIU et al., 1995). Solo supressivo foi usado, por exemplo, no controle de podridão de raiz causada por *Phytophthora* em mamoeiro em um solo de pomar infestado com o fungo da podridão de raiz *Phytophthora palmivora*; neste caso, um solo supressivo foi adicionado à cova de plantio resultando no controle da doença (AGRIOS, 1977). Por outro lado, em muitas doenças, o cultivo contínuo de uma mesma cultura (monocultura) em solo conducente, depois de alguns anos de doença severa, eventualmente ocorre uma redução da doença por meio do aumento de populações de antagonistas ao patógeno. Como exemplo, a monocultura de trigo conduz à redução de *take-all* em trigo e a monocultura de pepino conduz a redução de *damping-off* causado por *Rhizoctonia*. Da mesma forma, o cultivo contínuo de melão permitiu a promoção de espécies antagonistas ao *Fusarium* causador da murcha por *Fusarium* resultando na redução da doença (AGRIOS, 1977). Tais solos são supressivos ao desenvolvimento dessas doenças. Esta supressão deve-se à microbiota antagonista e pode ser demonstrada pela pasteurização do solo a 60°C por 30 minutos, a qual elimina completamente a supressão.

Solos supressivos foram descritos em diversos sistemas (consultar revisões por Hornby 1983; Haas e Défago 2005), os quais incluem: *Fusarium oxysporum* na murcha em tomate, rabanete, banana e outros; *Phytophthora cinnamomi* na podridão da raiz em eucaliptos; *Pythium* spp. e *Rhizoctonia solani* em *damping-off* de várias culturas como beterraba e rabanete; *Thielaviopsis basicola* na podridão preta da raiz de tabaco, feijão, cerejeiras e outras; *Streptomyces scabiei* na sarna da batata que causam lesões nos tubérculos; *Ralstonia solanacearum* na murcha bacteriana do tomate, tabaco e outros; *Meloidogyne incognita* em várias culturas, principalmente em países tropicais e subtropicais. Porém, a supressão ao mal-do-pé em trigo é o sistema no qual os mecanismos são mais conhecidos. Neste sistema tem sido demonstrado o papel fundamental de *Pseudomonas fluorescens* na supressão da doença. Estudos correlacionam níveis de supressão da doença à densidade populacional de *P. fluorescens* (RAAIJMAKERS et al., 1999). Tradicionalmente, estudos que utilizam uma abordagem clássica de isolamento e cultivo de antagonistas focam em *P. fluorescens*, porém com o surgimento de diversas técnicas independente de cultivo, novos grupos de microrganismos têm sido associados à supressão de doenças em solos, como por exemplo, *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Actinomycetes*, *Cyanobacteria*, *Bacteroidetes*, *Azospirillum*, *Gluconacetobacter*, *Burkholderia*, *Comamonas* e *Sphingomonadaceae* (DeANGELIS et al., 2008; KYSELKOVÁ et al., 2009; MENDES et al., 2011).

### **Uso de metagenômica no estudo de solos supressivos**

Os solos supressivos a doenças representam uma fonte inesgotável de microrganismos para serem explorados biotecnologicamente, pois hospedam um enorme conjunto de funções de interesse que incluem a inibição de patógenos. Porém, as abordagens microbiológicas tradicionais são limitadas no sentido de que apenas uma

mínima fração da comunidade microbiológica pode ser cultivada em laboratório. Apesar do desenvolvimento de estratégias para o cultivo de microrganismos que resistem ao crescimento em meio de cultura, a porcentagem de organismos cultivados a partir do solo em relação à comunidade total ainda é incipiente.

Com o suporte de técnicas moleculares, os microbiologistas têm superado a limitação intrínseca à abordagem tradicional do cultivo de microrganismos e explorado diretamente o DNA extraído do solo. Metagenômica é o estudo coletivo de genomas recuperados de amostras ambientais sem cultivo prévio dos microrganismos. Ela permite a investigação da informação dos genomas de organismos dificilmente cultivados em laboratório. Portanto, é um método sistemático de investigação, classificação e manipulação do material genético total isolado de amostras ambientais. Embora vários novos genes e funções tenham sido descobertos pela aplicação da metagenômica, ainda há desafios na aplicação desta tecnologia a partir de amostras de solo. As principais limitações técnicas são: i) obtenção de quantidades adequadas e de alta qualidade de DNA de solo, ii) construção de bibliotecas com fragmentos longos, e iii) protocolos de triagem, os quais nem sempre são eficientes (VAN ELSAS et al., 2008a).

Em uma iniciativa da União Europeia, vários laboratórios estabeleceram um projeto de metagenômica em solos supressivos a doenças, denominado “METACONTROL - Soil metagenomics to identify novel mechanisms of antagonism and antifungal activity for the improved control of phytopathogens” em 2002. O principal foco do projeto foi explorar genes envolvidos na produção de antibióticos da classe poliquetídeos e genes da biossíntese de quitinase, considerando os solos supressivos como reservatório de genes anti-fitopatógenos. Durante o projeto quatro tipos de solos supressivos e um solo controle foram usados. Na Holanda foi utilizado solo supressivo à *Rhizoctonia solani* AG3, na Suécia solo supressivo à

*Plasmodiophora brassicae*, na França e no Reino Unido solos supressivos ao *Fusarium*, e o solo controle foi amostrado na França.

Assim como outros projetos de metagenômica, várias funções biológicas novas foram descobertas ao longo do METACONTROL, incluindo a maquinaria biossintética parcial para a produção de vários antibióticos poliquetídicos (BERTRAND et al., 2005; COURTOIS et al., 2003; ELSAS et al., 2008a; GINOLHAC et al., 2004; NALIN, 2004). É importante destacar que existem várias dificuldades intrínsecas à aplicação de metagenômica no estudo de solos, que vão desde a preparação do DNA à seleção de clones positivos. Estas dificuldades trazem como resultado um baixo número de sequências de interesse, mesmo as que são presumivelmente enriquecidas como uma função alvo no sistema (VAN ELSAS et al., 2008b). O avanço e a expansão da aplicação da abordagem metagenômica no estudo de solos supressivos irá permitir aos cientistas explorar genes e vias metabólicas de interesse biotecnológico, decifrar a identidade e funções de microrganismos até o momento não-cultivados e possibilitar uma caracterização geral das funções e diversidade do solo (VAN ELSAS et al., 2008a).

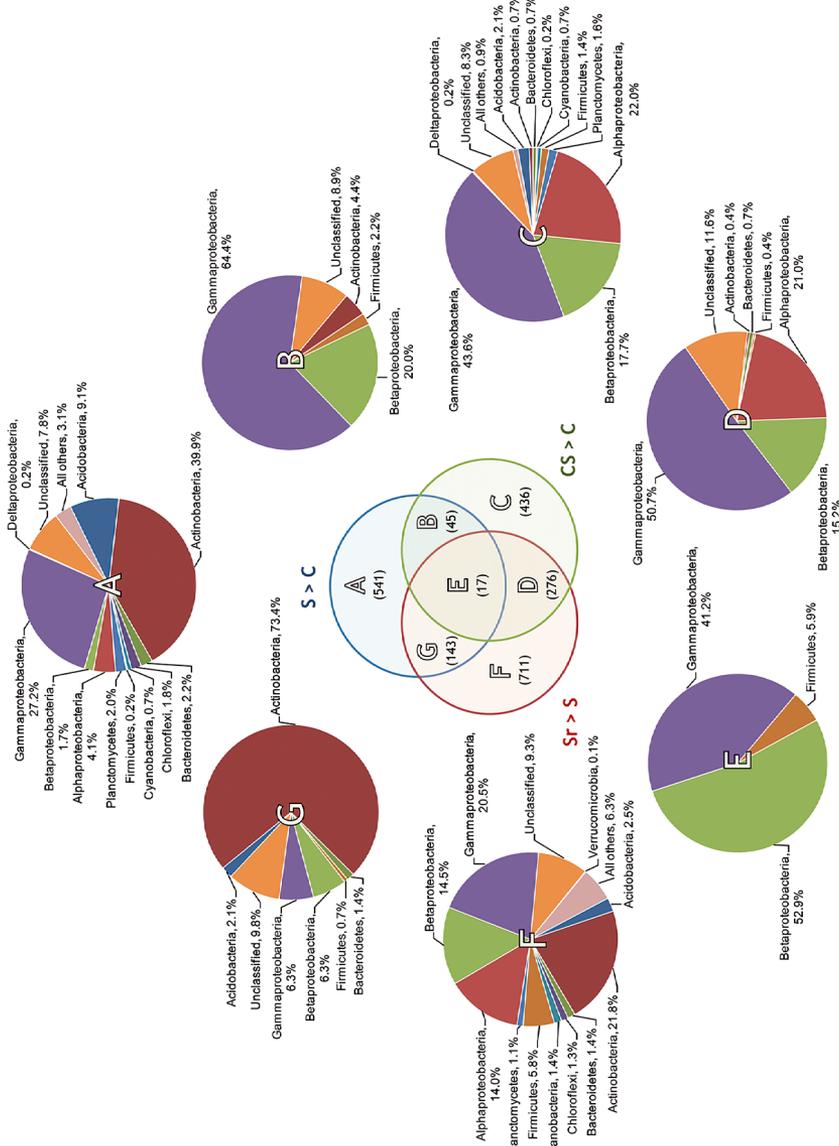
### **Comunidades microbianas do solo reforçam o sistema de defesa da planta**

Um recente estudo decifrou o microbioma da rizosfera de beterraba cultivada em solo supressivo com a finalidade de descobrir bactérias e moléculas responsáveis pela supressão do patógeno de solo *Rhizoctonia solani* (MENDES et al., 2011). Neste estudo os autores utilizaram um microarranjo de alta densidade de nucleotídeos de DNA ribossomal 16S (rDNA 16S), conhecido como PhyloChip (HAZEN et al., 2010), para identificar membros dos domínios Bactéria e Archaea na comunidade microbiana da rizosfera de plantas

cultivadas em solo supressivo a doenças. A abordagem metagenômica foi seguida de isolamento direcionado de grupos bacterianos apontados pelo PhyloChip como sendo associados à supressão de doenças e, por fim, descobriu-se vias metabólicas e genes biossintéticos envolvidos no controle do patógeno. Para este estudo foram considerados solos com diferentes níveis de supressão à doença, bem como o solo conducente, sendo: i) solo supressivo com inóculo do patógeno, ii) solo supressivo sem o patógeno, iii) solo conducente, iv) solo conducente acrescido de 10% de solo supressivo, e v) solo supressivo após tratamento térmico de uma hora a 50°C, ou vi) 80°C. Os tratamentos térmicos foram capazes de eliminar ou diminuir o efeito da supressão à *R. solani* nos solos supressivos, e o tratamento no qual o solo supressivo foi adicionado ao solo conducente apresentou o estabelecimento de um determinado nível de supressão no solo anteriormente conducente à doença. Com base nestes tratamentos, três critérios foram estabelecidos para se selecionar os grupos microbianos associados ao fenômeno: i) os microrganismos deveriam ser mais abundantes em solo supressivo do que em solo conducente, ii) mais abundantes no solo transplantado (conducente + 10% de supressivo) do que em solo conducente, e iii) mais abundantes em solo supressivo inoculado com *R. solani* do que em solo supressivo. A base para a escolha destes três critérios leva em conta que espera-se que os microrganismos que protegem a planta contra a infecção do patógeno na rizosfera de beterraba sejam naturalmente mais abundantes nos solos supressivos (critério i) e que quando o solo supressivo é transferido ao solo conducente, um inóculo de bactérias benéficas seja transferido e capaz de estabelecer níveis de controle da doença (critério ii). Adicionalmente, considerou-se a hipótese que a presença do patógeno no sistema induz os grupos antagonistas; assim, foram incluídos os microrganismos mais abundantes quando o patógeno foi introduzido no sistema em relação ao solo supressivo sem o patógeno (critério iii).

Uma visão geral da dinâmica dos taxa bacterianos associados aos solos supressivos é apresentada na Figura 1 (MENDES et al., 2011). O filo Proteobacteria, incluindo Pseudomonadaceae, Burkholderiaceae, Xanthomonadales, e o filo Firmicutes (Lactobacillaceae) foram identificados como os mais dinâmicos associados à supressão do patógeno de solo atendendo aos três critérios considerados. Desta forma, membros da família Pseudomonadaceae foram isolados, selecionados com base na inibição *in vitro* de *R. solani*, caracterizados geneticamente, e submetidos à mutação randômica para a identificação dos genes produtores do antibiótico responsável pela inibição do patógeno, o qual foi identificado como uma nova molécula, denominada tanamicina (MENDES et al., 2011).

Os autores concluem que o complexo fenômeno de solos supressivos a doenças não pode ser atribuído a apenas um único grupo ou táxon bacteriano, mas é provavelmente governado por um consórcio bacteriano. Sendo assim, a abordagem tradicional, que é limitada ao estudo dos microrganismos cultivados em meio de cultura, é insuficiente para a elucidação do fenômeno. Utilizando-se esta abordagem multifacetada, partindo de observações da evolução da doença no campo até a elucidação da molécula ativa, este estudo colocou a exploração dos solos supressivos em uma nova perspectiva, de maneira que a abundância relativa de diversos grupos microbianos, ou um complexo consórcio de bactérias, é mais importante indicador da supressão da doença do que a presença exclusiva de determinados antagonistas específicos.



**Figura 1.** Filos bacterianos associados à supressão de *Rhizoctonia solani* em rizosfera de beterraba. Estão indicados os taxa mais abundantes em solo supressivos (S) do que em solo condutivo (C) (gráfico A); taxa mais abundantes no solo transplantado (CS) do que em solo condutivo (gráfico C); e taxa mais abundantes em solo supressivo inoculado com *R. solani* (Sr) do que em solo supressivo (gráfico F). Cada um dos gráficos indicam os grupos bacterianos mais ativos associados à supressão da doença em cada uma das comparações. Os números de microrganismos em cada subgrupo estão entre parênteses. O gráfico E representa os 10% mais dinâmicos taxa que atendem os três critérios assumidos no estudo. Fonte: modificado por Mendes et al. (2011).

## Conclusão e perspectivas

Por muito tempo, e ainda atualmente, o entendimento do funcionamento e a exploração dos solos supressivos são considerados importantes conquistas para o progresso do controle biológico de doenças e, de acordo com seu potencial, pode-se afirmar que ainda são subutilizados na busca de soluções para o controle de patógenos de solo. A possibilidade da utilização da abordagem metagenômica, associada ao surgimento de diversas técnicas de sequenciamento de menor custo, possibilitarão a caracterização massiva de comunidades microbianas e funções em diversos sistemas onde o fenômeno de solos supressivos é bem conhecido. Porém, este ainda é o primeiro passo para a elucidação dos mecanismos que conduzem ao estabelecimento de um solo supressivo. O entendimento da sinalização metabólica entre o patógeno, hospedeiro e antagonistas é chave para se manipular os fatores indutores da supressão das doenças incitadas por patógenos de solo.

## Referências

- AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 4th ed. San Diego: Academic Press, 1997. 635 p.
- BERTRAND, H.; POLY, F.; VAN, V. T.; LOMBARD, N.; NALIN, R.; VOGEL, T. M.; SIMONET, P. High molecular weight DNA recovery from soils prerequisite for biotechnological metagenomic library construction. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v. 62, n. 1, p. 1-11, 2005.
- BROWN, M. E.; HORNBY, D.; PEARSON, V. Microbial populations and nitrogen in soil growing consecutive cereal crops infected with take-all. **Journal of Soil Science**, Oxford, v. 24, n. 3, p. 296-310, 1973.
- BRUEHL, G. W. (Ed.). **Biology and control of soil-borne plant pathogens**. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1975. 216 p.
- COOK, R. J.; BAKER, K. F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. St. Paul: American Phytopathological Society, 1983. 539 p.

COOK, R. J.; THOMASHOW, L. S.; WELLER, D. M.; FUJIMOTO, D.; MAZZOLA, M.; BANGERA, G.; KIM, D. S. Molecular mechanisms of defense by rhizobacteria against root disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, DC, v. 92, n. 10, p. 4197-4201, 1995.

COURTOIS, S.; CAPPELLANO, C. M.; BALL, M.; FRANCOU, F. X.; NORMAND, P.; HELYNCK, G.; MARTINEZ, A.; KOLVEK, S. J.; HOPKE, J.; OSBURNE, M. S. Recombinant environmental libraries provide access to microbial diversity for drug discovery from natural products. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 69, n. 1, p. 49-55, 2003.

DeANGELIS, K. M.; BRODIE, E. L.; DeSANTIS, T. Z.; ANDERSEN, G. L.; LINDOW, S. E.; FIRESTONE, M. K. Selective progressive response of soil microbial community to wild oat roots. **The ISME Journal**, New York, v. 3, n. 2, p. 168-178, 2008.

ELSAS, J. D. van; SPEKSNIJDER, A. J.; OVERBEEK, L. S. van. A procedure for the metagenomics exploration of disease-suppressive soils. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v. 75, n. 3, p. 515-522, 2008a.

Elsas, J. D. van; Costa, R.; Jansson, J.; Sjöling, S.; Bailey, M.; Nalin, R.; Vogel, T. M.; Overbeek, L. s. van. The metagenomics of disease-suppressive soils-experiences from the METACONTROL project. **Trends in Biotechnology**, Amsterdam, v. 26, n. 11, p. 591-601, 2008b.

GERLAGH, M. Introduction of *Ophiobolus graminis* into new polders and its decline. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 74, n. 2, p. 1-97, 1968.

GINOLHAC, A.; JARRIN, C.; GILLET, B.; ROBE, P.; PUJIC, P.; TUPHILE, K.; BERTRAND, H.; VOGEL, T. M.; PERRIERE, G.; SIMONET, P. Phylogenetic analysis of polyketide synthase I domains from soil metagenomic libraries allows selection of promising clones. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 70, n. 9, p. 5522-5527, 2004.

HAAS, D.; DÉFAGO, G. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 3, n. 4, p. 307-319, 2005.

HAZEN, T. C.; DUBINSKY, E. A.; DeSANTIS, T. Z.; ANDERSEN, G. L.; PICENO, Y. M.; SINGH, N.; JANSSON, J. K.; PROBST, A.; BORGLIN, S. E.; FORTNEY, J. L.; STRINGFELLOW, W. T.; BILL, M.; CONRAD, M. E.; TOM, L. M.; CHAVARRIA, K. L.; ALUSI, T. R.; LAMENDELLA, R.; JOYNER, D. C.; SPIER, C.; BAEUM, J.; AUER, M.; ZEMLA, M. L.; CHAKRABORTY, R.; SONNENTHAL, E. L.; D'HAESELEER, P.; HOLMAN, H. Y. N.; OSMAN, S.; LU, Z. M.; VAN NOSTRAND, J. D.; DENG, Y.; ZHOU, J. Z.; MASON, O. U. Deep-sea oil plume enriches indigenous oil-degrading bacteria. **Science**, Washington, DC, v. 330, n. 6001, p. 204-208, 2010.

HORNBY, D. Suppressible soils. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 21, p. 65-85, 1983.

HUBER, D. M.; SCHNEIDER, R. W. The description and occurrence of suppressive soil. In: SCHNEIDER, R. W. (Ed.). **Suppressive soils and plant disease**. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1982. p. 1-7.

KYSELKOVÁ, M.; KOPECKÝ, J.; FRAPOLLI, M.; DÉFAGO, G.; SÁGOVÁ-MAREČKOVÁ, M.; GRUNDMANN, G. L.; MOËNNE-LOCCOZ, Y. Comparison of rhizobacterial community composition in soil suppressive or conducive to tobacco black root rot disease. **The ISME Journal**, New York, v. 3, n. 10, p. 1127-1138, 2009.

LIU, D.; ANDERSON, N. A.; KINKEL, L. L. Biological control of potato scab in the field with antagonistic *Streptomyces scabies*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 85, n. 7, p. 827-831, 1995.

MENDES, R.; KRUIJT, M.; DE BRUIJN, I.; DEKKERS, E.; VOORT, M. van der; SCHNEIDER, J. H. M.; PICENO, Y. M.; DESANTIS, T. Z.; ANDERSEN, G. L.; BAKKER, P. A. H. M.; RAAIJMAKERS, J. M. Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria. **Science**, Washington, DC, v. 332, n. 6033, p. 1097-1100, 2011.

NALIN, R. **LibraGen. Method for the expression of unknown environmental DNA into adapted host cells**. Int. C12N15/76. CA CA2492966 A1. 12 Feb. 2004.

POPE, A.; JACKSON, R. Effects of wheat field soil on inocula of *Gaeumannomyces graminis* (Sacc.) Arx & Olivier var. *tritici* J. Walker in relation to take-all decline. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 5, n. 6, p. 881-890, 1973.

RAAIJMAKERS, J. M.; BONSALL, R. F.; WELLER, D. M. Effect of population density of *Pseudomonas fluorescens* on production of 2, 4-diacetylphloroglucinol in the rhizosphere of wheat. **Phytopathology**, St. Paul, v. 89, n. 6, p. 470-475, 1999.

VOJINOVIC, Z. The Influence of micro-organisms following *Ophiobolus graminis* Sacc. on its further pathogenicity. **EPPO Bulletin**, Oxford, v. 2, n. 9, p. 91-101, 1973.

WALKER, J. Type studies on *Gaeumannomyces graminis* and related fungi. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v. 58, n. 3, p. 427-457, 1972.

# Controle Biológico de Patógenos de Solo

Murillo Lobo Junior

---

## Introdução

O solo é um ambiente dinâmico que abriga processos importantes mediados por microrganismos, tais como ciclagem de nutrientes, ocorrência de doenças do sistema radicular, controle biológico de patógenos e pragas, absorção de nutrientes via simbiose, entre outros. Todos os microrganismos habitantes do solo compõem a comunidade microbiana que, junto a processos biológicos, são investigados como indicadores da sustentabilidade da produção agrícola e/ou da qualidade do solo (BENDING et al., 2004; CARTER, 2002).

As espécies da comunidade microbiana do solo respondem de modo distinto a eventos como os tratos culturais, que estressam ou estimulam os microrganismos. Deste modo, a capacidade produtiva de um solo não depende unicamente de suas características físico-químicas, mas também da interação entre diversos fatores no sistema solo-planta-microbiota. Saber manejar o solo de modo a preservar, ou mesmo melhorar suas características em sistemas sustentáveis, é um dos desafios para a agricultura atual.

Em todos os agroecossistemas seria ideal contar com solos supressivos a diferentes fitopatógenos, onde os patógenos não se estabelecessem ou se estabelecessem causando poucos danos (BAKER; COOK, 1974). A intensificação da agricultura faz com que a realidade da maioria das áreas cultivadas esteja longe deste ideal. Por outro lado, há tecnologias suficientes para se contornar muitos dos

problemas causados por patógenos que sobrevivem no solo. Entre as diversas práticas de manejo de doenças, o controle biológico é uma das que mais vem contribuindo em termos práticos, e onde também se observa um notável avanço do conhecimento, que demonstra o quanto esta linha de pesquisa tem evoluído.

Na ausência de um manejo eficiente de doenças, nota-se o rápido acúmulo de patógenos que habitam o solo em detrimento aos microrganismos benéficos às plantas, de modo que os plantios intensivos ou rotações curtas resultem constantemente na ocorrência de pelo menos duas doenças de importância econômica, que podem inviabilizar áreas altamente infestadas. A importância dos patógenos habitantes do solo (ou “patógenos de solo”) se dá pela sua sobrevivência no solo por vários anos, por meio de estruturas de resistência (escleródios ou clamidósporos), e em geral alta agressividade. Não há resistência genética para a maioria das doenças causada por estes organismos nas cultivares disponíveis. Todavia, estes patógenos possuem dezenas de espécies de fungos e de bactérias antagonistas, chamados de agentes de controle biológico ou biocontroladores.

### **Oitenta anos de pesquisa em controle biológico**

Desde o relato de Weidling em 1932 sobre a capacidade de *Trichoderma lignorum* em parasitar patógenos de solo, foram publicados milhares de artigos com resultados relacionados ao controle biológico de doenças, notadamente nos últimos 30 anos. Em comparação aos conhecimentos reunidos no primeiro livro voltado para o controle biológico de doenças (BAKER; COOK, 1974), o estado da arte relacionado a este tema reflete o avanço tecnológico e a maturidade que as pesquisas atingiram em um campo vasto que vai desde a ecologia de microrganismos, o sequenciamento de genomas de antagonistas, a um melhor entendimento das rela-

ções das plantas com a comunidade microbiana no solo. Andrews e Harris (2000) sugerem que, na ausência de genes de resistência, as espécies vegetais evoluíram desenvolvendo uma estratégia de estímulo e associação a diversos grupos de microrganismos, como uma defesa aos patógenos habitantes do solo. Da mesma forma que exsudatos radiculares atraem, por meio de sinais químicos, os microrganismos patogênicos, os diversos açúcares, aminoácidos e outros metabólitos liberados pelo sistema radicular são capazes de atrair diferentes espécies benéficas que infectam as raízes, estabelecendo comunicação química com as plantas (HARMAN, 2011), e protegem suas “hospedeiras” do ataque de patógenos. Desta forma, entende-se o controle biológico como um processo natural que, para seu uso em maior escala, requer um melhor entendimento das relações planta × antagonistas × patógenos × comunidade microbiana × ambiente.

Quanto ao antagonista, estas características o possibilitam competir, colonizar e proteger raízes, por meio de um fenômeno chamado de rizocompetência. Este mecanismo é fundamental e viabiliza o biocontrole de doenças radiculares, incrementando, inclusive, a proteção de plantas em caso de níveis intermediários de resistência ou suscetibilidade (AN et al., 2011; MARTINUZ et al., 2012). Por este motivo, frequentemente, as publicações também tratam das diferentes etapas de processos de seleção de antagonistas, desde o levantamento de demandas, testes de eficiência, formulação e liberação em escala comercial, em etapas sistematizadas por Köhl et al. (2011).

No Brasil, as dimensões do país e a ampla gama de espécies cultivadas abrem inúmeras possibilidades para o desenvolvimento e uso do controle biológico. Observa-se em nosso país um grande número de pesquisadores dedicados a esta linha de pesquisa e um número crescente de empresas produzindo e registrando seus bioprodutos. Uma amostra deste conhecimento gerado pode ser ob-

servada em consulta à base Lattes do CNPq, que revela centenas de pesquisadores com doutorado cadastrados com publicações relacionadas ao controle biológico, com diferenças claras quanto à atenção com que patógenos ou antagonistas tem recebido, conforme o número de publicações geradas (Tabela 1).

**Tabela 1.** Número de pesquisadores com doutorado cadastrados na base Lattes do CNPq em março de 2012, com trabalhos realizados envolvendo o controle biológico de patógenos habitantes do solo e respectivos microrganismos para biocontrole.

Antagonista	Pesquisadores	Patógeno	Pesquisadores
<i>Trichoderma</i> spp.	485	<i>Fusarium oxysporum</i>	296
<i>Bacillus</i> spp.	400	<i>Phytophthora</i> spp.	290
<i>Penicillium</i> spp.	294	<i>Rhizoctonia solani</i>	253
Leveduras	290	<i>Sclerotium cepivorum</i> e/ ou <i>S. rolfsii</i>	176
<i>Pseudomonas</i> spp.	290	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	171
Fungos formadores de micorrizas	77	<i>Fusarium solani</i>	171
Comunidade microbiana	68	<i>Ralstonia solanacearum</i>	128
<i>Coniothyrium minitans</i>	7	<i>Macrophomina phaseolina</i>	84

Este levantamento serve como uma amostra da massa crítica no país que se dedica ao tema, e não separa profissionais que trabalham com mais de um antagonista ou patógeno, nem distingue o

estudo de *Fusarium oxysporum* como patógeno ou como agente de controle biológico. Os comentários feitos a seguir servem como subsídio a mostrar o estado da arte envolvendo o controle biológico de doenças em patossistemas importantes, sem a pretensão de esgotar o assunto.

Os estudos conduzidos no Brasil e no exterior com controle biológico de patógenos de solo se concentram, geralmente, no uso de um antagonista para controle de um patógeno específico, em detrimento de estudos que investigam comunidades de microrganismos do solo ou complexos formados por duas ou mais espécies de patógenos. Esta abordagem tem sido eficiente na obtenção de resultados consistentes e na sua adoção do controle biológico em escala comercial, mas vale como reflexão sobre a nossa dificuldade em estabelecer um manejo “holístico” dos solos cultivados, que gere supressividade às doenças em diferentes agroecossistemas. Em ambas as abordagens, dentro e fora do Brasil, também há uma expectativa sobre o quanto os novos conhecimentos podem se transformar em aplicações práticas, que aumentem a eficiência do biocontrole e do manejo de doenças.

### **Da teoria à realidade**

O controle biológico evolui com a geração de novos conhecimentos a cada década. Muitas das primeiras experiências a sair do ambiente controlado dos laboratórios foram demonstradas em substratos para a produção de plantas ornamentais ou hortaliças (HOITINK; FAHY, 1986) e na importância de antagonistas em solos supressivos (HAAS; DÉFAGO, 2005). Observa-se que o controle biológico gerou um maior volume de publicações nos importantes patossistemas formados nestas espécies, de maior valor agregado e cultivadas majoritariamente em pequenas propriedades (PAULITZ; BELÁNGER, 2001), em comparação a outras culturas anuais.

Atualmente, existe uma grande demanda para o controle biológico de patógenos habitantes do solo em culturas anuais produtoras de grãos e de fibras (JACCOUD FILHO et al., 2010; REZENDE et al., 2010). Nos cultivos de *commodities*, como soja e algodão, há dificuldades em manejar os patógenos de solo, especialmente devido à sua frequente distribuição em reboleiras, maior tamanho das áreas e menor valor agregado destas culturas, em comparação às hortaliças. Não obstante, esta demanda por soluções biológicas tem sido justificada pelo fato de outras práticas de controle serem limitadas na redução da densidade de inóculo de patógenos como *Sclerotinia sclerotiorum*, causador do mofo branco em mais de 400 hospedeiras. É justamente aí onde antagonistas como *Trichoderma* spp. podem proporcionar a proteção desejada às plantas (notadamente raízes) aproveitando-se da sua versatilidade em afetar os patógenos por meio de parasitismo, antibiose e elevada capacidade de degradar carboidratos estruturais e não estruturais.

Essa forma de controle foi viabilizada após décadas de pesquisa em vários países com a seleção de antagonistas e o desenvolvimento de formulações estáveis, que carregam uma grande quantidade de esporos viáveis, que possam ser competitivos no seu sítio de atuação – o solo. Para atender a tantas expectativas, Harman (2000) considera que somente antagonistas amplamente adaptados e ativos são a única opção economicamente viável para a adoção em escala comercial de fungicidas biológicos.

### **As novas ferramentas biotecnológicas a serviço do controle biológico**

O gênero *Trichoderma* foi descrito por Persoon em 1794 e reúne espécies que estão entre as mais comumente encontradas no solo. Este gênero é tratado aqui como o melhor exemplo do avanço no conhecimento em biocontrole, impulsionado como um todo a come-

çar da popularização de métodos moleculares, a partir da década de 90, além do desenvolvimento de formulações que aumentam a viabilidade de esporos para produção em escala comercial (XAVIER-SANTOS et al., 2011). O caso de maior sucesso de *Trichoderma* para controle biológico é de uma cepa obtida por meio de fusão de protoplastos (um protocolo atualmente exequível em diversos laboratórios) conhecida como T-22, desenvolvida na Universidade de Cornell, nos EUA. Devido à sua eficiência em campo, atualmente, esta universidade recebe cerca de US\$800.000,00 de royalties obtidos pelo licenciamento da cepa T-22 (HARMAN, 2011).

Como os gêneros de antagonistas apresentam, entre sua ampla variabilidade, isolados de elevado potencial para o controle biológico, trabalhos que visem à caracterização, seleção e adaptação aos solos brasileiros com potencial para utilização do controle biológico *in situ* devem ser estimulados. O conhecimento desta diversidade é também essencial para viabilizar o melhoramento genético de antagonistas, já utilizado com eficiência (BARCELLOS; PIZZIRANI-KLEINER, 2003; SIVAN; HARMAN, 1991).

Por volta de meados da década de 90, havia pouco menos de 30 espécies morfológicas de *Trichoderma* conhecidas e o crescente número de novas espécies descritas posteriormente reflete apenas o impacto que os novos métodos trouxeram em termos de taxonomia. Graças às facilidades geradas pelo sequenciamento de DNA, já se conhecem mais de 100 espécies filogenéticas deste gênero (DRUZHININA et al., 2006). A diversidade de espécies encontradas em métodos baseados em sequenciamento de DNA praticamente inviabiliza a taxonomia meramente morfológica, apesar desta não ser dispensada na identificação de novas espécies. Independentemente do surgimento de novas espécies de *Trichoderma*, é visível que poucas são adaptadas ao solo (FRIEDL; DRUZHININA, 2012), sendo esta a provável causa de *T. harzianum* e *T. asperellum* estarem presentes na imensa maioria de artigos publicados e bioprodutos comercializados.

Após sua aplicação no solo, pode-se atualmente rastrear o desenvolvimento de cepas específicas de antagonistas por meio da reação de PCR quantitativa, com precisão suficiente para estimativa da dinâmica de populações específicas, em densidades a partir de  $2,2 \times 10^4$  ufc g solo<sup>-1</sup> (SAVAZZINI et al., 2008). Esta abordagem permite uma estimativa da sobrevivência de isolados aplicados no solo e seus impactos sobre o ambiente e patógenos, diferenciando sua população das populações de isolados endêmicos. Da mesma forma, o mesmo princípio pode ser adotado para se verificar efeitos sobre a densidade de inóculo de patógenos como *Fusarium solani* e *Rhizoctonia solani* (FILION et al., 2003), fato que dificilmente seria verificado com a mesma precisão por outros métodos.

Os modos de ação de *Trichoderma* spp., como hiperparasitismo e antibiose, são bem conhecidos, mas, conforme revisões de Ojiambo e Scherm (2006) e Shores et al. (2010), sabe-se também que a indução de resistência por isolados deste gênero tem um papel importante em vários patossistemas, e que vários mecanismos operando simultaneamente podem atuar aditiva ou sinergicamente para incremento do biocontrole. Estes autores incluem também, entre os benefícios de antagonistas, outras mudanças fisiológicas nas plantas, como a possibilidade de aumento da eficiência de nutrientes, maior fotossíntese e atividades respiratórias, sendo estes processos dependentes de cepas específicas. Aparentemente, ainda não há estimativas da contribuição proporcional de cada um destes processos, tanto no biocontrole, quanto na fisiologia das plantas protegidas.

Também é grande a variedade de metabólitos produzidos por fungos e bactérias usados no biocontrole. Parte da importância que determinados antagonistas recebem atualmente se deve à sua capacidade de produzir antibióticos de amplo espectro como derivados de 2,4-diacetilfloroglucinol (ou 2,4-DAPG) e outros como pirrolnitrina e pioluteorina produzidos por *Pseudomonas* spp., con-

siderados como um dos maiores focos da pesquisa em controle biológico, com diferentes genes clonados periodicamente neste e em outros gêneros de antagonistas (HERMOSA et al., 2012; WELLER et al., 2007).

A expressão de genes por bactérias pode ser realizada a partir de determinadas concentrações de suas populações. Este mecanismo de regulação denominado de “quorum sense” na expressão de genes já foi demonstrado em bactérias patogênicas habitantes do solo, do gênero *Erwinia*. É perfeitamente possível, portanto, que as bactérias do solo que atuam como biocontroladoras de patógenos também possuam o mesmo mecanismo. Há evidências de que mesmo isolados de *Pseudomonas* de populações distintas se comunicam, viabilizando a produção de compostos antimicrobianos (MAURHOFER et al., 2004).

Há mais de 12 gêneros de bactérias considerados como agentes de controle biológico e promotores do crescimento de plantas e, à semelhança do observado em fungos, periodicamente novos gêneros são descobertos (KIM et al., 2011). Estes fatos dão uma ideia do avanço tecnológico que ocorre em estudos envolvendo controle biológico de doenças, e abrem perspectivas para seu uso que seriam impensáveis 30 anos atrás.

Ao mesmo tempo, ainda permanecem muitas dúvidas e oportunidades de melhoria quanto à inclusão do controle biológico como prática agrônômica em muitos sistemas produtivos, onde frequentemente o tratamento dado aos antagonistas é o mesmo dado aos insumos sintéticos. A obtenção de resultados que justifique a adoção do controle biológico passa pela adoção de uma visão holística sobre os agroecossistemas, onde é essencial compreender a estratégia de sobrevivência de antagonistas e patógenos, a cultura hospedeira, o ambiente e a comunidade microbiana do solo.

## O que o controle biológico de patógenos de solo realmente nos fornece

Todos estes recursos tecnológicos disponíveis não isentam os antagonistas da reação diferencial a fatores bióticos e abióticos, o que torna um passo fundamental no uso do biocontrole a sua avaliação em estudos de eficiência agrônômica, visando proporcionar ao antagonista uma vantagem competitiva em relação aos patógenos de solo e outros membros da comunidade microbiana. Harman et al. (2004) consideram que o aumento da produtividade proporcionado por isolados selecionados de *Trichoderma* spp. é mais evidente sob condições estressantes às plantas, em termos de presença de patógenos. Sob condições próximas ao ideal, os benefícios às plantas são menos evidentes, provavelmente pela capacidade da comunidade microbiana do solo já suprir a planta em termos de proteção aos patógenos naquele ambiente.

Ao proporcionar aos antagonistas um ambiente favorável ao seu desenvolvimento, o controle biológico de patógenos habitantes do solo atua onde outros métodos não têm efeito ou são limitados, podendo fornecer resultados em curto período. Um exemplo de sua aplicação é o parasitismo de escleródios de *S. sclerotiorum*, que sobrevivem por vários anos no solo (GÖRGEN et al., 2009). Essa vantagem tem impulsionado seu uso em nosso país, ainda que de forma relativamente empírica. Em campo, os resultados obtidos no Brasil em estudos sistematizados são ainda insuficientes para subsidiar sua ampla aceitação por agricultores e profissionais da assistência técnica. Da mesma forma que os fungicidas sintéticos, são necessários testes de eficiência agrônômica e de outros ajustes para seu uso adequado. Os resultados são específicos para cada cepa e não podem ser extrapolados para outras.

Desta forma, os métodos de aplicação de agentes de controle biológico devem, naturalmente, ser feitos em condições ambientais

que favoreçam o desenvolvimento e parasitismo dos patógenos. Esses fatores são essenciais para o sucesso da prática, pois condições ambientais adversas, cepas de baixa competitividade e uso de esporos em concentração insuficiente são as principais causas de insucesso do controle biológico. Alguns cuidados a serem observados no uso comercial ou experimental desses bioprodutos são citados a seguir:

1. É essencial aplicar o antagonista na dose e número de esporos (conídios) viáveis recomendados. Para não comprometer a viabilidade dos esporos, a embalagem do produto deve ser mantida em condições adequadas, de preferência em geladeira. Após a data de vencimento, que deve constar nas embalagens, a viabilidade de esporos diminui para abaixo do necessário para reduzir o inóculo de patógenos no solo.

2. Solo úmido sem a incidência de raios solares e temperaturas entre 20°C e 25°C são, geralmente, as condições ideais para o desenvolvimento do antagonista como *Trichoderma* spp. e *Clonostachys rosea*. A eficiência destes antagonistas é limitada sob temperaturas mais baixas, e nenhuma em solo seco. Da mesma forma, outros antagonistas tem suas condições ótimas para desenvolvimento e sua recomendação deve levar em conta as condições ambientais. Já *Coniothyrium minitans* é adaptado a temperaturas amenas (18-22°C), sendo comumente recomendado em países de clima temperado.

3. Garantias sobre a qualidade e viabilidade de esporos e a compatibilidade com insumos químicos são responsabilidades do fornecedor. Se necessário, testes de quantidade e viabilidade de esporos podem ser feitos em laboratórios de empresas de pesquisa e universidades, com relativa facilidade.

4. Alguns entusiastas pregam a eficiência ou vendem produtos para o controle biológico como solução definitiva para os patógenos de

solo, o que definitivamente não ocorre. Dúvidas sobre a eficiência de formulações podem ser esclarecidas com testes no local, comparando o antagonista com uma testemunha (área sem aplicação do produto) para checar as reais diferenças de controle de doenças e rendimento das culturas.

5. A dosagem mais eficiente para controle de um patógeno não é necessariamente a mais alta. Acima da dosagem ideal, a eficiência do controle biológico e a produtividade caem. Além disso, os custos de produção aumentam, já que o produtor está fazendo uso de mais um insumo.

Ao se observar estas exigências dos fungicidas biológicos, diversos benefícios do controle podem ser obtidos, tais como: redução da densidade de inóculo de patógenos habitantes do solo, menor incidência e/ou severidade de doenças, promoção do crescimento de plantas, melhorias no estande (número de plantas por área), maior aproveitamento dos nutrientes do solo e redução do uso de insumos químicos.

Vale lembrar que todos os principais fungos fitopatogênicos habitantes do solo são transmitidos por sementes. A transmissão de patógenos como *S. sclerotiorum* por meio de sementes e o transporte de escleródios junto a lotes de sementes tem sido considerados como os principais meios de introdução do patógeno em novas áreas e de reinfestação de locais onde já se faz o manejo do mofo branco. Tradicionalmente, o tratamento químico das sementes com fungicidas tem sido adotado como medida de contenção do patógeno. O controle biológico, por sua vez, pode ser adicionado ao uso de fungicidas sintéticos para aumentar a porcentagem de controle do patógeno, ou mesmo aumentar a proteção das sementes a estresses abióticos (MASTOURI et al., 2010; SHUKLA et al., 2012).

Vários fungos e bactérias têm o potencial de controlar *S. sclerotiorum*, como espécies de *Trichoderma*, *Bacillus*, *Coniothyrium* e

*Pseudomonas* entre dezenas de outros gêneros, podendo parasitar as hifas ou escleródios produzidos nas sementes infectadas logo após o plantio. Mais do que uma simples interação entre antagonista e patógeno, níveis crescentes de controle podem ser obtidos com a seleção de antagonistas mais eficientes em termos de parasitismo e/ou produção de metabólitos como antibióticos e enzimas que afetam o desenvolvimento de patógenos como *S. sclerotiorum*. O uso de agentes de controle biológico em sementes também deve ser validado por meio de testes de praticabilidade e eficácia agrônômica, e passar pelos trâmites legais para seu registro. Tendo cumprido estas exigências, este método pode promover outros benefícios além do controle de *S. sclerotiorum* nas sementes, como a proteção a doenças radiculares e aumento do crescimento de plantas, com reflexos positivos na produtividade das culturas.

Comparando-se com os resultados da Tabela 1, observa-se que apesar de toda a importância dada ao mofo branco atualmente, *S. sclerotiorum* aparentemente não é o patógeno que recebe maiores atenções por parte da pesquisa no Brasil. Possivelmente, isso se dá pelos problemas mais evidentes, causados por este patógeno, estarem atualmente em áreas de culturas anuais (em especial soja, feijão comum e algodão) onde, frequentemente há dificuldades em se realizar ensaios consistentes, devido à dimensão das áreas afetadas.

Para o biocontrole de *S. sclerotiorum*, um elemento-chave para um melhor parasitismo dos escleródios é a distribuição adequada do produto biológico sobre o solo, sob condições ambientais ideais para o desenvolvimento rápido do antagonista. A aplicação via barra de pulverização ou água de irrigação é adequada para esse fim por cobrir 100% da área infestada com o patógeno. Não há provas de que o jato dirigido ou o tratamento de sementes sejam eficientes para controlar *S. sclerotiorum* em todo um talhão cultivado com uma espécie anual, pois a área de contato do antagonista com o

solo é muito pequena, apesar de relatos de disseminação de até 4 m de distância a partir do ponto de inoculação, para *T. atroviride*. (LONGA et al., 2009).

Parte da eficiência de isolados de *Trichoderma* spp. no controle biológico depende também da sua capacidade de adaptação ao agroecossistema, do qual não são originários. Em cultivos sob agricultura convencional, onde são utilizados diversos insumos sintéticos, é necessário que o antagonista seja compatível com os diversos ingredientes aplicados no solo, com herbicidas e inseticidas em suas dosagens recomendadas, e ainda, com a própria planta, pois nem sempre os benefícios de promoção do crescimento de plantas são observados (TUCCI et al., 2011). Neste caso, é essencial que os antagonistas sejam compatíveis com inseticidas também adicionados ao tratamento de semente. Os antagonistas podem ser aplicados diretamente ao solo para a redução do inóculo inicial dos patógenos. O momento e a forma de aplicação variam de acordo com o patógeno a ser controlado. Para podridões radiculares ou causadores de murchas, agentes de controle biológico podem ser aplicados em jato dirigido ao sulco de plantio, na semeadura, para o biocontrole de *Fusarium solani* e *F. oxysporum*. Ambas as espécies são fungos habitantes do solo muito conhecidos por poderem abrigar formas patogênicas causadoras de doenças radiculares em culturas anuais e perenes. O aumento da densidade de inóculo das formas patogênicas destas espécies se dá pela frequência dos plantios de suas hospedeiras suscetíveis e pelas condições ambientais encontradas nas lavouras. Esta adaptação a diversos ambientes mais a agressividade tornam as *formae specialis* patogênicas fatores limitantes à produtividade, ainda que também possam ser controladas por antagonistas (DUBEY et al., 2007).

De modo geral, a redução inicial de patógenos nos níveis já obtidos com o controle biológico não dispensa o produtor de outras formas de controle, como o uso de palhada, adição de matéria orgânica,

rotações de cultura, sistemas de plantio, escolha de cultivares, pois, no caso de *S. sclerotiorum*, mesmo poucos escleródios restantes no solo são capazes de promover epidemias do mofo branco. Estas e outras práticas, além de incentivarem o desenvolvimento de populações endêmicas de antagonistas, podem também formar o ambiente necessário à ação de microrganismos introduzidos no sistema de plantio para o controle de patógenos de solo. Neste sentido, muitas práticas culturais, por afetarem o componente biológico no solo, podem contribuir para o manejo destas doenças, reduzindo o potencial de inóculo para as culturas subsequentes (ABAWI; WIDMER, 2000).

### **Conclusão: passos mais largos a cada ano**

O manejo de áreas infestadas com *S. sclerotiorum* por meio de formação de palhada pode ser considerado como premissa básica para a utilização do controle biológico em grandes culturas, já que a eficiência do biocontrole tem relação direta com o ambiente onde os antagonistas são aplicados.

A adoção do controle biológico de doenças cresce 10-15% anualmente e, no Brasil, sua adoção em maior escala passa pelo registro no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento de bioprodutos, e ensaios em rede que atestem a estabilidade de resultados, isto é, a eficácia semelhante de produtos e tratamentos aplicados em diferentes regiões do Brasil. As próprias instituições de pesquisa, ensino e indústrias podem se beneficiar deste amadurecimento ao padronizar procedimentos e métodos de análises de dados, que por sua vez possibilitam meta-análises (NGUGI et al., 2011) resultando em uma compreensão mais ampla dos benefícios e limitações do biocontrole praticado no Brasil. Os incentivos, como as demandas por tecnologias que viabilizem a agricultura de baixo carbono no país estão disponíveis.

Estudos como o uso de dois diferentes antagonistas no controle de doenças e as possibilidades de melhoramento genético para a simbiose mostram que o potencial do controle biológico está longe de ser esgotado (MARTÍNEZ-MEDINA et al., 2011; MEYER et al., 2010), lembrando-se do seu potencial como promotor do crescimento de plantas, capaz de proporcionar aumentos em produtividade com mais de 800 kg ha<sup>-1</sup> na cultura do milho (HARMAN, 2011).

Além destes estudos, faltam no Brasil informações de estudos sistematizados que demonstrem seus efeitos em médio e longo prazos, seu comportamento em ambientes distintos como solos de diferentes texturas, níveis de fertilidade e de salinidade do solo, e em áreas produtivas com diferentes microclimas e gradientes de fertilidade.

Sem dúvida, o conhecimento a ser adquirido parte da diversidade genética dos diferentes fungos e bactérias adaptados para o controle biológico. Por este motivo, é essencial a organização e exploração de coleções de culturas, onde seu potencial de antagonismo ao patógeno, simbiose com as espécies de interesse, mecanismos bioquímicos e adaptação às condições de multiplicação massal pela indústria de antagonistas possam resultar em maior segurança à produção agrícola no Brasil e na produção de alimentos mais saudáveis.

## Referências

ABAWI, G. S.; WIDMER, T. L. Impact of soil health management practices on soil-borne pathogens, nematodes and root diseases of vegetable crops. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 15, n. 1, p. 37-47, 2000.

AN, M.; ZHOU, X.; WU, F.; MA, Y.; YANG, P. Rhizosphere soil microorganism populations and community structures of different watermelon cultivars with differing resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 57, n. 5, p. 355-365, 2011.

ANDREWS, J. H.; HARRIS, R. F. The ecology and biogeography of microorganisms on plant surfaces. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 38, p. 145-180, 2000.

BAKER, K. F.; COOK, R. J. **Biological control of plant pathogens**. San Francisco: W. H. Freeman, 1974, 433 p.

BARCELLOS, F. G.; PIZZIRANI-KLEINER, A. A. Genetic characterization of somatic recombination in *Trichoderma pseudokoningii*. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 34, n. 2, p. 152-156, 2003.

BENDING, G. D.; TURNER, M. K.; RAYNS, F.; MARX, M. C.; WOOD, M. Microbial and biochemical soil quality indicators and their potential for differentiating areas under contrasting agricultural management regimes. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 36, n. 11, p.1785-1792, 2004.

CARTER, M. R. Soil quality for sustainable land management: organic matter and aggregation interactions that maintain soil functions. **Agronomy Journal**, Madison, v. 94, n. 1, p. 38-47, 2002.

DRUZHININA, I. S.; KOPCHINSKIY, A. G.; KUBICEK, C. P. The first 100 *Trichoderma* species characterized by molecular data. **Mycoscience**, Tokyo, v. 47, n. 1, p. 55-64, 2006.

DUBEY, S. C.; SURESH, M.; SING, B. Evaluation of *Trichoderma* species against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* for integrated management of chickpea wilt. **Biological Control**, Orlando, v. 40, n. 1, p. 118-127, 2007.

FILION, M.; ST-ARNAUD, M.; JABAJI-HARE, S. H. Quantification of *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* in mycorrhizal bean plants and surrounding mycorrhizosphere soil using real-time polymerase chain reaction and direct isolations on selective media. **Phytopathology**, St. Paul, v. 93, n. 2, p. 229-235, 2003.

FRIEDL, M. A.; DRUZHININA, I. S. Taxon-specific metagenomics of *Trichoderma* reveals a narrow community of opportunistic species that regulate each other's development. **Microbiology**, Reading, v. 158, n. 1, p. 69-83, 2012.

GÖRGEN, C. A.; SILVEIRA NETO, A. N.; CARNEIRO, L. C.; RAGAGNIN, V.; LOBO JUNIOR, M. Controle do mofo-branco com palhada e *Trichoderma harzianum* 1306 em soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 44, n. 12, p. 1583-1590, 2009.

HAAS, D.; DÉFAGO, G. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 3, n. 4, p. 307-319, 2005.

HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol: changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, St. Paul, v. 84, n. 4, p. 377-393, 2000.

HARMAN, G. E. *Trichoderma*: not just for biocontrol anymore. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 39, n. 2, p. 103-110, 2011.

HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* species: opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 2, n. 1, p. 43-56, 2004.

HERMOSA, R.; VITERBO, A.; CHET, I.; MONTE, E. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. **Microbiology**, Reading, v. 158, n. 1, p. 17-25, 2012.

HOITINK, H. A. J.; FAHY, P. C. Basis for the control of soilborne plant pathogens with composts. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 24, p. 93-114, 1986.

JACCOUD FILHO, D. S.; VRISMAN, C. M.; MANOSSO NETO, M.; HENNEBERG, L.; GRABICOSKI, E. M. G.; PIERRE, M. L. C.; SARTORI, F. F. Avaliação da eficácia de fungicidas e *Trichoderma* no controle do mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) na cultura da soja. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 31., 2010, Brasília, DF. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 2010. p. 220-222.

KIM, Y. C.; LEVEAU, J.; MCSPADDEN-GARDENER, B. B.; PIERSON, E. A.; PIERSON III, L. S.; RYU, C. M. The multifactorial basis for plant health promotion by plant-associated bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 77, n. 5, p. 1548-1555, 2011.

KÖHL, J.; POSTMA, J.; NICOT, P.; RUOCCO, M.; BLUM, B. Stepwise screening of microorganisms for commercial use in biological control of plant-pathogenic fungi and bacteria. **Biological Control**, Orlando, v. 57, n. 1, p. 1-12, 2011.

LONGA, C. M.; SAVAZZINI, F.; TOSI, S.; ELAD, Y.; PERTOT, I. Evaluating the survival and environmental fate of the biocontrol agent *Trichoderma atroviride* SC1 in vineyards in northern Italy. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 106, n. 5, p. 1549-1557, 2009.

MARTÍNEZ-MEDINA, A.; ROLDAN, A.; PASCUAL, J. A. Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and *Trichoderma harzianum* under conventional and low input fertilization field condition in melon crops: Growth response and Fusarium wilt biocontrol. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 47, n. 2, p. 98-105, 2011.

MARTINUZ, A.; SCHOUTEN, A.; SIKORA, R. A. Systemically induced resistance and microbial competitive exclusion: Implications on biological control. **Phytopathology**, St. Paul, v. 102, n. 3, p. 260-266, 2012.

MASTOURI, F.; BJÖRKMAN, T.; HARMAN, G. E. Seed treatment with *Trichoderma harzianum* alleviates biotic, abiotic, and physiological stresses in germinating seeds and seedlings. **Phytopathology**, St. Paul, v. 100, n. 11, p. 1213-1221, 2010.

MAURHOFER, M.; BAEHLER, E.; NOTZ, R.; MARTINEZ, V.; KEEL, C. Cross Talk between 2,4-diacetylphloroglucinol-producing biocontrol Pseudomonads on wheat roots. **Applied and Environmental Microbiology** v.70, p.1990-1998, 2004.

MEYER, J. M.; LUTZ, M. P.; FRAPOLLI, M.; TARR, M. P.; ROCHAT, L.; KEEL, C.; DÉFAGO, G.; MAURHOFER, M. Interplay between wheat cultivars, biocontrol Pseudomonads, and soil. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 76, n. 18, p. 6196-6204, 2010.

NGUGI, H. K.; ESKER, P. D.; SCHERM, H. Meta-analysis to determine the effects of plant disease management measures: Review and case studies on soybean and apple. **Phytopathology**, St. Paul, v. 101, n. 1, p. 31-41, 2011.

OJIAMBO, P. S.; SCHERM, H. Biological and application-oriented factors influencing plant disease suppression by biological control: a meta-analytical review. **Phytopathology**, St. Paul, v. 96, n. 11, p. 1168-1174, 2006.

PAULITZ, T. C.; BELÁNGER, R. R. Biological control in greenhouse systems. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 39, p. 103-133, 2001.

REZENDE, A. A.; JULIATTI, F. C.; CAIRES, A. M.; AGUIAR, P.; CARNEIRO, L. M. S. Eficiência de diferentes produtos comerciais à base de *Trichoderma* spp. no controle da podridão branca da haste da soja (*Sclerotinia sclerotiorum*). In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 31., 2010, Brasília, DF. **Anais....** Londrina: Embrapa Soja, 2010. p. 229-232.

SAVAZZINI, F.; LONGA, C. M. O.; PERTOT, I.; GESSLER, C. Real-time PCR for detection and quantification of the biocontrol agent *Trichoderma atroviride* strain SC1 in soil. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v. 73, n. 2, p. 185-194, 2008.

SHORESH, M.; HARMAN, G. E.; MASTOURI, F. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 48, p. 21-43, 2010.

SHUKLA, N.; AWASTHI, R. P.; RAWAT, L.; KUMAR, J. Biochemical and physiological responses of rice (*Oryza sativa* L.) as influenced by *Trichoderma harzianum* under drought stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v. 54, p. 78-88, 2012.

SIVAN, A.; HARMAN, G. E. Improved rhizosphere competence in a protoplast fusion progeny of *Trichoderma harzianum*. **Journal of General Microbiology**, London, v. 137, n. 1, p. 23-29, 1991.

TUCCI, M.; RUOCCO, M.; DE MASI, L.; DE PALMA, M.; LORITO, M. The beneficial effect of *Trichoderma* spp. on tomato is modulated by the plant genotype. **Molecular Plant Pathology**, Oxford, v. 12, n. 4, p. 341-354, 2011.

WELLER, D. M.; LANDA, B. B.; MAVRODI, O. V.; SCHROEDER, K. L.; FUENTE, L. de la; BANKHED, S. B. MOLAR, R. A.; BONSALL, R. F.; MAVRODI, D. V.; THOMASHOW, L. S. Role of 2,4-Diacetylphloroglucinol-producing fluorescent *Pseudomonas* spp. in the defense of plant roots. **Plant Biology**, Stuttgart, v. 9, n. 1, p. 4-20, 2007.

XAVIER-SANTOS, S.; LOPES, R. B.; FARIA, M. Emulsifiable oils protect *Metarhizium robertsii* and *Metarhizium pingshaense* conidia from imbibitional damage. **Biological Control**, Orlando, v. 59, n. 2, p. 261-267, 2011.

# Quorum-Quenching: uma Nova Perspectiva de Controle Biológico de Bacterioses de Plantas

Bernardo de Almeida Halfeld-Vieira e Miriam Fumiko Fujinawa

---

## Introdução

Os critérios de seleção de agentes de biocontrole de bacterioses de plantas normalmente têm levado em consideração ensaios que permitam detectar o envolvimento da antibiose, competição e indução de resistência como modos de ação.

Entretanto, à medida que os estudos relacionados à ecologia microbiana avançam, novos mecanismos que tenham relação com a capacidade de biocontrole são descobertos, aumentando-se as opções de critérios a serem explorados na obtenção de antagonistas.

Uma nova perspectiva que vem sendo considerada promissora na seleção de agentes de controle biológico de bacterioses de plantas é a busca por organismos capazes de degradar moléculas responsáveis pela comunicação entre células bacterianas, evento esse conhecido como quorum-quenching. Detalhes deste mecanismo e sua perspectiva de aplicação no controle biológico serão abordados neste capítulo.

## Quorum-sensing

O evento conhecido como quorum-sensing foi descoberto por Nealson e Hastings (1979), a partir de estudos conduzidos com *Vibrio fischeri*, uma bactéria proveniente de habitat marinho que exerce papel importante em associação com um molusco da espécie *Euprymna scolopes*.

De hábito noturno, esta espécie de lula tem como atributo anular sua silhueta sob a luz do luar por meio da bioluminescência, que lhe confere uma vantagem ecológica, por reduzir as chances de ser detectada por predadores (McFALL-NGAI, 2008b; RUBY, 1996).

Entretanto, *E. scolopes* não é capaz de desencadear a bioluminescência *per si*, mas sim quando está associada simbioticamente com a bactéria *V. fischeri*, capaz de produzir luciferase, uma enzima que catalisa reações biológicas transformando energia química em energia luminosa. Esta bactéria coloniza a superfície das células epiteliais de um órgão específico e rico em nutrientes sendo, portanto, responsável por este fenômeno (McFALL-NGAI, 2008a; WATERS; BESSLER, 2005).

Apesar dessa associação entre dois organismos parecer somente mais um fato curioso na biologia, a bioluminescência trouxe grandes avanços na compreensão de como bactérias interagem entre si, comportando-se coordenadamente e adquirindo um comportamento coletivo. Isto ocorreu devido à descoberta de que a produção de luciferase é dependente da expressão de genes específicos que ocorre somente quando a população de *V. fischeri* atinge determinada densidade de células, o que levou à formulação do modelo de auto-indução em comunidades bacterianas (NG; BASSLER, 2009).

Nesse modelo, a produção de uma determinada molécula só é desencadeada simultaneamente por todas as células bacterianas quando todos os indivíduos “percebessem” que sua população atin-

giu uma determinada densidade. Devido a este fator condicionante, a auto-indução bacteriana foi denominada “quorum-sensing”, termo proposto por Fuqua et al. (1994). Em consequência da descoberta de como ocorre a auto-indução em *V. fischeri*, a partir da década de 90 houve um grande crescimento no número de trabalhos envolvendo este tema, em diferentes áreas da bacteriologia, verificando-se que o fenômeno é comum para diversas bactérias (WILLIAMS et al., 2007), incluindo-se as fitopatogênicas.

### **Processo de auto-indução**

A sincronia do desencadeamento da expressão gênica de células bacterianas individuais, em resposta a mudanças na densidade de células é dependente do acúmulo de moléculas específicas que sinalizam quando a comunidade bacteriana atinge determinada densidade.

Em bactérias Gram-negativas da classe *Proteobacteria*, esta sinalização é promovida principalmente por autoindutores ou feromônios bacterianos (JONES et al., 1993) pertencentes às Acil homoserina lactonas (AHLs), cuja composição molecular é constituída por anéis de homoserina lactona acompanhados de uma cadeia acil lateral, que contêm de 4 a 18 átomos de carbono (Di CAGNO et al., 2011; FUQUA et al., 2001).

Cada célula bacteriana normalmente sintetiza moléculas de AHLs, que são rapidamente removidas da célula por difusão. Com o aumento da comunidade bacteriana, a concentração de AHL no meio se eleva, atingindo um nível crítico que faz com que a concentração deste auto-indutor aumente no interior da célula. Em seguida, a AHL interage com o fator de transcrição (homólogo ao gene responsável pela luminescência em *V. fischeri*) que, por sua vez, modula a expressão de genes que são expressos somente quando

a comunidade bacteriana atinja uma densidade mínima (FUQUA et al., 2001), ou seja, quando se atinge um quorum mínimo de células bacterianas para o desencadeamento de um evento.

De modo geral, duas proteínas são essenciais para o controle da auto-indução e seguem o mesmo modelo descrito para *V. fischeri*. Para esta bactéria, LuxI tem papel fundamental na síntese de AHL, enquanto LuxR é um receptor citoplasmático da molécula autoindutora de AHL e ativador do fator de transcrição responsável pela síntese de luciferase. Em uma situação em que não há moléculas de AHL, a proteína LuxR é instável e rapidamente degradada.

Da mesma forma, bactérias Gram-negativas fitopatogênicas têm genes que codificam para proteínas homólogas a LuxI e LuxR e, portanto, responsáveis pelo quorum-sensing. Em *Agrobacterium tumefaciens*, por exemplo, este papel é desempenhado pelas proteínas Tral e TraR, enquanto em *Pantoea stewartii*, as proteínas envolvidas são EsaI e EsaR (NG; BASSLER, 2009). Entretanto, a utilização de moléculas de AHL como sinalizadoras de auto-indução, apesar de ser reportado para mais de 70 espécies bacterianas (WILLIAMS et al., 2007), incluindo as pertencentes aos gêneros *Pectobacterium*, *Pantoea*, *Pseudomonas* e *Agrobacterium* (QUIÑONES et al., 2005), não é um modelo universal.

Espécies do gênero *Xanthomonas*, por exemplo, apesar de portarem o gene capaz de promover o reconhecimento de AHLs, não são capazes de produzir tais moléculas, postulando-se que a função associada a este gene seria de sinalização inter-reinos ou da percepção da presença de comunidades de bactérias de diferentes gêneros no nicho em que habitam (FERLUGA et al., 2007).

Porém, de forma análoga, tem sido verificado que para algumas espécies de *Xanthomonas*, o quorum-sensing envolve o ácido cis-11-metil-2-dodecenóico (DSF) como auto-indutor, reportado como necessário para regulação da virulência, motilidade, produção de

toxinas, dispersão do biofilme e produção de exopolissacarídeos (BODMAN et al., 2003; ZHAO et al., 2011). Por outro lado, bactérias Gram-positivas utilizam peptídeos como auto-indutores que necessitam de transportadores trans-membrana específicos para serem secretados da célula. Porém, a maior diferença entre o sistema de quorum-sensing de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas é a localização dos receptores. Enquanto na primeira o receptor é citoplasmático, na segunda se localiza na membrana celular (NG; BASSLER, 2009).

### **Importância do quorum-sensing para as bactérias fitopatogênicas**

A auto-indução é um atributo que evoluiu para que as bactérias respondam coletivamente a estímulos ambientais, incluindo a presença de hospedeiros e competidores, o que faz com que tenha grande importância no processo infeccioso de diversas bactérias fitopatogênicas.

Neste sentido, genes que codificam para fatores de virulência como proteases, celulasas, pectinases, proteínas Hrp só são expressos quando a população bacteriana encontra-se em alta densidade, o que aumenta as chances de suplantarem os mecanismos que conferem resistência às plantas (JONES et al., 1993; PIERSON III et al., 1998). Da mesma forma, a capacidade de competir com outros organismos também é regulada por este mecanismo já que a produção de moléculas como antibióticos e sideróforos são também dependentes do quorum (WILLIAMS et al., 2007).

Um dos modelos mais conhecidos da importância do papel da auto-indução no processo de patogênese em fitobactérias é descrito para membros do gênero *Pectobacterium* (anteriormente classificadas no gênero *Erwinia*). Considera-se que estas bactérias têm

duas fases durante o seu ciclo infectivo: uma denominada passiva e pré-quorum, no qual a bactéria se multiplica, mas não causa maceração de tecido, e outra agressiva e pós-quorum em que ocorre a síntese coordenada de exoenzimas e outros produtos, incluindo o antibiótico carbapenem (BYERS et al., 2002).

O papel das exoenzimas é o de degradar a parede celular vegetal, causando maceração de tecidos, sendo estas importantes no processo de patogênese (CHATTERJEE, 1995; MATSUMOTO et al., 2003; MOLINA et al., 2005), pois se sabe que a redução na capacidade de produção de pectinases faz com que a bactéria tenha a sua virulência significativamente reduzida (HYTYIÄINEN et al., 2001). Já o carbapenem tem como principal função inibir a colonização do sítio de infecção por bactérias saprofiticas (AXELROOD et al., 1988; McGOWAN et al., 1997).

A síntese destas enzimas e do carbapenem está diretamente ligada ao quorum-sensing, cuja molécula sinalizadora é uma AHL e, portanto, a auto-indução é fator crucial para o processo de patogênese desta bactéria (CHARKOWSKI, 2009).

Em *Agrobacterium*, o quorum-sensing está envolvido no controle da transferência por conjugação, do plasmídeo responsável pela tumorigênese (plasmídeo Ti) para estirpes de *Agrobacterium* que não possuem o plasmídeo, porém que coabitam o tumor.

Para *Ralstonia*, o quorum-sensing resulta no aumento da produção de exopolissacarídeos e exoenzimas, além do decréscimo da motilidade das células e da síntese de sideróforos. Considera-se que esses atributos são determinantes para a transição do estado saprofitico em solo para a atuação como fitopatógeno.

Maiores detalhes e outros exemplos da importância do quorum-sensing para bactérias fitopatogênicas podem ser consultados em Bodman et al. (2003).

## **Quorum-quenching como mecanismo de controle biológico de fitobacterioses**

Entende-se como quorum-quenching a habilidade de interromper a comunicação decorrente do aumento da densidade do número de células bacterianas, ou seja, não permitir que as moléculas de AHL atinjam a concentração requerida para o desencadeamento da resposta de auto-indução ou quorum-sensing. O quorum-quenching é um importante mecanismo de competição entre bactérias, podendo conferir vantagem de uma determinada espécie sobre outra. Desta forma, a elucidação de como esta interrupção de sinais ocorre, pode ajudar no desenvolvimento de novas estratégias no controle de bactérias patogênicas (RASMUSSEN; GIVSKOV, 2006).

A principal vantagem do quorum-quenching sobre o uso de antibióticos no controle de bacterioses é de uma menor pressão de seleção de estirpes que suplantem os mecanismos de inibição. Considera-se, portanto, nulo ou pequeno, os riscos de haver seleção de estirpes bacterianas resistentes ao quorum-quenching (DEFOIRDT et al., 2010)

Como vimos anteriormente, interrupções na cadeia de sinais que façam com que uma comunidade bacteriana não entre em quorum-sensing, interfere diretamente na virulência de algumas fitobactérias em que este evento é conhecido.

Alguns trabalhos apontam quais linhas de pesquisa vêm sendo conduzidas visando à utilização prática do quorum-quenching no controle de doenças bacterianas.

Um exemplo que podemos citar é o uso de plantas medicinais, tradicionalmente usadas na medicina chinesa. Koh e Tham (2011) mostraram que extratos obtidos das seguintes plantas: *Prunus armeniaca*, *Prunella vulgaris*, *Nelumbo nucifera*, *Panax notoginseng*, *Punica granatum*, *Areca catechu* e *Imperata cylindrica*, são capazes

de degradarem a molécula de AHL. Esse resultado é um indicativo de que a interferência no sinal de auto-indução é um mecanismo que pode ser investigado em trabalhos que usem extratos de plantas para o controle de fitobacterioses.

Outra linha envolve a utilização de espécies bacterianas portadoras de genes que codificam enzimas capazes de degradar as moléculas de AHL (D'ANGELO-PICARD et al., 2005; DONG et al., 2000; UROZ et al., 2009).

Neste sentido, Molina et al. (2003) realizaram um trabalho utilizando mutantes de *Pseudomonas fluorescens* P3/pME6863 contendo o gene *aiiA* de *Bacillus* sp. A24. Este gene é responsável pela codificação de uma lactonase e, portanto, capaz de degradar a molécula de AHL (DONG et al., 2001), fazendo com que a auto-indução não seja desencadeada.

Ao realizar testes com plantas de tomate e tubérculos de batata, esse mutante adquiriu a capacidade de promover significativamente a redução da massa de galhas incitadas por *A. tumefaciens* em tomateiro e na área degradada nos tubérculos por *P. carotovorum*. O sucesso em controlar ambas as doenças deve-se à molécula de AHL ser um auto-indutor comum às duas espécies bacterianas.

Outros exemplos de linhas de pesquisa envolvendo quorum-quenching incluem a seleção de bactérias selvagens (CHRISTIAEN et al., 2011; MOROHOSHI et al., 2009) e fungos (UROZ; HEINONSA-LO, 2008) capazes de produzir constitutivamente moléculas que degradam AHL, além de plantas transgênicas que secretam lactonases (D'ANGELO-PICARD et al., 2011).

Outro aspecto que se deve destacar é que fatores abióticos também são capazes de promoverem a degradação de moléculas de AHL. Neste sentido, Byers et al. (2002) demonstraram que a molécula sinalizadora N-(3-oxohexanoil)-L-homoserina lactona, produzida por

*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* se torna instável e é degradada quando o pH do meio se encontra na faixa entre 7 e 8. Ou seja, estratégias que permitam a manutenção do pH no sítio de infecção dentro deste intervalo podem auxiliar no controle de podridões-moles causadas por este patógeno.

### **Considerações finais**

Embora o quorum-quenching seja um meio promissor de controle biológico de bacterioses de plantas, algumas limitações devem ser levadas em consideração devido ao fato de outras bactérias, responsáveis por exercerem o biocontrole, terem, também, algumas funções reguladas pelo evento da auto-indução.

Podemos citar como exemplo algumas estirpes fluorescentes do gênero *Pseudomonas*. Uma das características principais que conferem a capacidade de biocontrole a essas bactérias é a produção de fenazinas, com atividade inibitória a bactérias e fungos, cuja síntese é dependente de moléculas de AHL (HAAS; KEEL, 2003; MAVRODI et al., 2006).

Portanto, o uso de meios que promovam a degradação dessas moléculas, podendo reduzir sensivelmente o biocontrole natural exercido por bactérias cujos mecanismos de controle de doenças sejam dependentes do quorum-sensing, tem gerado discussão no meio científico (D'ANGELO-PICARD et al., 2011). Mais uma vez, a complexidade das interações que interferem nos mecanismos responsáveis pelo controle biológico se mostra presente.

## Referências

AXELROOD, P. E.; RELLA, M.; SCHROTH, M. N. Role of antibiosis in competition of *Erwinia* Strains in potato infection courts. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 45, n. 5, p. 1222-1229, 1988.

BODMAN, S. B. von; BAUER, W. D.; COPLIN, D. L. Quorum sensing in plant-pathogenic bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 41, p. 455-482, 2003.

BYERS, J. T.; LUCAS, C.; SALMOND, G. P. C.; WELCH, M. Nonenzymatic turnover of an *Erwinia carotovora* quorum-sensing signaling molecule. **Journal of Bacteriology**, Washington, DC, v. 184 n. 4, p. 1163-1171, 2002.

CHARKOWSKI, A. O. Decaying signals: will understanding bacterial-plant communications lead to control of soft rot? **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 20, n. 2, p. 178-184, 2009.

CHATTERJEE, A.; CUI, Y.; LIU, Y.; DUMENYO, C. K.; CHATTERJEE, A. K. Inactivation of rsmA leads to overproduction of extracellular pectinases, cellulases, and proteases in *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* in the absence of the starvation/cell density-sensing signal, N-(3-oxohexanoyl)-L-homoserine lactone. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 61, n. 5, p. 1959-1967, 1995.

CHRISTIAEN, S. E. A.; BRACKMAN, G.; NELIS, H. J.; COENYE, T. Isolation and identification of quorum quenching bacteria from environmental samples. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v. 87, n. 2, p. 213-219, 2011.

D'ANGELO-PICARD, C.; CHAPELLE, E.; RATET, P.; FAURE, N.; DESSAUX, Y. Transgenic plants expressing the quorum quenching lactonase AttM do not significantly alter root-associated bacterial populations. **Research in Microbiology**, Paris, v. 162, n. 9, p. 951-958, 2011.

D'ANGELO-PICARD, C.; FAURE, D.; PENOT, I.; DESSAUX, Y. Diversity of N-acyl homoserine lactone-producing and-degrading bacteria in soil and tobacco rhizosphere. **Environmental Microbiology**, Oxford, v. 7, n. 11, p. 1796-1808, 2005.

DEFOIRDT, T.; BOON, N; BOSSIER, P. Can Bacteria Evolve Resistance to Quorum Sensing Disruption? **PLoS Pathogens**, San Francisco, v. 6, n. 7, p. 1-6, 2010.

DI CAGNO, R.; DE ANGELIS, M.; CALASSO, M.; GOBBETTI, M. Proteomics of the bacterial cross-talk by quorum sensing. **Journal of Proteomics**, Amsterdam, v. 74, n. 1, p. 19-34, 2011.

DONG, Y. H.; WANG L. H.; XU, J. L.; ZHANG, H. B.; ZHANG, X. F.; ZHANG L. H. Quenching quorum-sensing-dependent bacterial infection by an N-acyl homoserine lactonase. **Nature**, London, v. 411, n. 6839, p. 813-817, 2001.

DONG, Y. H.; XU, J. L.; LI, X. Z.; ZHANG, L. H. AiiA, an enzyme that inactivates the acylhomoserine lactone quorum-sensing signal and attenuates the virulence of *Erwinia carotovora*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, DC, v. 97, n. 7, p. 3526-3531, 2000.

FERLUGA, S.; BIGIRIMANA, J.; HÖFTE, M.; VENTURI, V. A LuxR homologue of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* is required for optimal rice virulence. **Molecular Plant Pathology**, Oxford, v. 8, n. 4, p. 529-538, 2007.

FUQUA, W. C.; PARSEK, M. R.; GREENBERG, E. P. Regulation of gene expression by cell-to-cell communication: acyl-homoserine lactone quorum sensing. **Annual Review of Genetics**, Palo Alto, v. 35, p. 439-68, 2001.

FUQUA, W. C.; WINANS, S. C.; GREENBERG, E. P. Quorum sensing in bacteria—the LuxR-LuxI family of cell density responsive transcriptional regulators. **Journal of Bacteriology**, Washington, DC, v. 176, n. 2, p. 269-275, 1994.

HAAS, D.; KEEL, C. Regulation of antibiotic production in root-colonizing *Pseudomonas* spp. and relevance for biological control of plant disease. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 41, p. 117-153, 2003.

HYTYIÄINEN, H.; MONTESANO, M.; TAPIO PALVA, E. Global regulators ExpA (GacA) and KdgR modulate extracellular enzyme gene expression through the RsmA-rsmB system in *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 14, n. 8, p. 931-938, 2001.

JONES, S.; YU, B.; BAINTON, N.J.; BIRDSALL, M.; BYCROFT, B.W.; CHHABRA, S. R.; COX, A. J.; GOLBY, P.; REEVES, P. J.; STEPHENS, S.; WINSON, M. K.; SALMOND, G. P. C.; STEWART, G. S. A. B.; WILLIAMS, P. The Lux autoinducer regulates the production of exoenzyme virulence determinants in *Erwinia carotovora* and *Pseudomonas aeruginosa*. **The EMBO Journal**, London, v. 12, n. 6, p. 2477-2482, 1993.

KOH, K. H.; THAM, F. Y. Screening of traditional Chinese medicinal plants for quorum-sensing inhibitors activity. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, Taipei, v. 44, n. 2, p. 144-148, 2011.

MATSUMOTO, H.; JITAREERAT, P.; BABA, Y.; TSUYUMU S. Comparative study of regulatory mechanisms for pectinase production by *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* and *Erwinia chrysanthemi*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 16, n. 3, p. 226-237, 2003.

MAVRODI, D. V.; BLANKENFELDT, W.; THOMASHOW, L. S. Phenazine compounds in fluorescent *Pseudomonas* spp. biosynthesis and regulation. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 44, p. 417-445, 2006.

McFALL-NGAI, M. Host-microbe symbiosis: the squid-Vibrio association- a naturally occurring, experimental model of animal/bacterial partnerships. In: HUFFNAGLE, G. B.; NOVERR, M. C. (Ed.). **GI microbiota and regulation of the immune system**. New York: Springer, 2008a. p. 102-112.

McFALL-NGAI, M. Hawaiian bobtail squid. **Current Biology**, London, v. 18, n. 22, p. R1043-R1044, 2008b.

McGOWAN, S. J.; SEBAIHIA, M.; O'LEARY, S.; HARDIE, K. R.; WILLIAMS, P.; STEWART, G. S. A. B.; BYCROFT, B. W.; SALMOND, G. P. C. Analysis of the carbapenem gene cluster of *Erwinia carotovora*: definition of the antibiotic biosynthetic genes and evidence for a novel  $\beta$ -lactam resistance mechanism. **Molecular Microbiology**, Oxford, v. 26, n. 3, p. 545-556, 1997.

MOLINA, L.; CONSTANTINESCU, F.; MICHEL, L.; REIMMANN, C.; DUFFY, B.; DÉFAGO, G. Degradation of pathogen quorum-sensing molecules by soil bacteria: a preventive and curative biological control mechanism. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 45, n. 1, p. 71-81, 2003.

MOLINA, L.; REZZONICO, F.; DÉFAGO, G.; DUFFY, B. Autoinduction in *Erwinia amylovora*: evidence of an acyl-homoserine lactone signal in the fire blight pathogen. **Journal of Bacteriology**, Washinton, DC, v. 187, n. 9, p. 3206-3213, 2005.

MOROHOSHI, T.; SOMEYA, N.; IKEDA, T. Novel N-acylhomoserine lactone-degrading bacteria isolated from the leaf surface of *Solanum tuberosum* and their quorum-quenching properties. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, Tokyo, v. 73, n. 9, p. 2124-2127, 2009.

NEALSON K. H.; HASTINGS J. W. Bacterial bioluminescence: its control and ecological significance. **Microbiological Reviews**, Washington, DC, v. 43, n. 4, p. 496-518, 1979.

NG, W. L.; BASSLER, B. L. Bacterial quorum-sensing network architectures. **Annual Review of Genetics**, Palo Alto, v. 43, p. 197-222, 2009.

PIERSON III, L. S.; WOOD, D. W.; PIERSON, E. A. Homoserine lactone-mediated gene regulation in plant-associated bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 36, p. 207-225, 1998.

QUIÑONES, B.; DULLA, G.; LINDOW S. E. Quorum sensing regulates exopolysaccharide production, motility, and virulence in *Pseudomonas syringae*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, Palo Alto, v. 18, p. 682-693, 2005.

RASMUSSEN, T. B.; GIVSKOV, M. Quorum-sensing inhibitors as anti-pathogenic drugs. **International Journal of Medical Microbiology**, Jena, v. 296, n. 2-3, p. 149-161, 2006.

RUBY, E. G. Lessons from a cooperative, bacterial-animal association: the *Vibrio fischeri-Euprymna scolopes* light organ symbiosis. **Annual Review of Microbiology**, Stanford, v. 50, p. 591-624, 1996.

UROZ, S.; HEINONSALO, J. Degradation of N-acyl homoserine lactone quorum sensing signal molecules by forest root-associated fungi. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 65, n. 2, p. 271-278, 2008.

UROZ, S.; DESSAUX, Y.; OGER, P. Quorum sensing and quorum quenching: the yin and yang of bacterial communication. **ChemBioChem**, Weinheim, v. 10, n. 2, p. 205-216, 2009.

WATERS, C. M.; BASSLER, B. L. Quorum Sensing: cell-to-cell communication in bacteria. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, Palo Alto, v. 21, p. 319-346, 2005.

WILLIAMS, P.; WINZER, K.; CHAN, W. C.; CÁMARA, M. Look who's talking: communication and quorum sensing in the bacterial world. **Philosophical Transactions of the Royal Society B, London**, v. 362, n. 1483, p. 1119-1134, 2007.

ZHAO, Y.; QIAN, G.; YIN, F.; FAN, J.; ZHAI, Z.; LIU, C.; HU, B.; LIU, F. Proteomic analysis of the regulatory function of DSF-dependent quorum sensing in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*. **Microbial Pathogenesis**, London, v. 50, n. 1, p. 48-55, 2011.

## Indução de Resistência em Plantas: Modos de Ação e Estudos de Caso

Flávio H. V. Medeiros, Fernanda C. L. Medeiros, Mário L. V. Resende, Paul W. Pare, Ricardo M. Souza e Henrique M. Ferro

---

### Introdução

Com uma grande quantidade de doenças afetando as plantas, há de se supor que as doenças de plantas são regra. Plantas como o tomate podem ser infectadas por, pelo menos, trinta diferentes patógenos, não raro observando-se a ocorrência de mais de uma doença simultaneamente em uma mesma planta. No entanto, a regra é a resistência e não a suscetibilidade (AGRIOS, 2005), pois muitos patógenos que infectam tomate não infectam plantas pertencentes a outras famílias botânicas e vice-versa (KIMATI et al., 2005).

Tratando-se de resistência, os primeiros artefatos que a planta desenvolveu para conter a penetração do patógeno foram as barreiras estruturais pré-formadas, como o depósito de lignina na parede celular. Há ainda barreiras químicas que se encontram presentes na planta antes da penetração do patógeno como as glucanases e quitinases constitutivas. No entanto, os patógenos co-evoluíram com as plantas resistentes e desta seleção natural resultaram microrganismos com mecanismos de superação das barreiras físicas e químicas pré-formadas. Por outro lado, nesta interação suscetível, foram selecionadas plantas que também desenvolveram mecanismos de resistência pós-formados, ou seja, formados após a infecção pelo patógeno ou simplesmente pelo contato com a célula

vegetal. Este mecanismo de resistência é chamado de imunidade inata e envolve tanto o aumento das barreiras pré-formadas, e/ou quanto a síntese de novas moléculas (JONES; DANGL, 2006).

A imunidade inata de plantas pode ser dividida em interação gene a gene e resposta a padrões moleculares associados a micróbios (sigla em inglês MAMP). Ambas diferem na forma de percepção do sinal, na velocidade e na intensidade de respostas, mas em muito se assemelham em relação às respostas de defesa.

Na interação gene a gene, um receptor do tipo *nucleotide-binding leucine rich repeat* (NB-LRR), interno à célula, reconhece uma molécula efetora do patógeno, o que desencadeia uma rápida transdução de sinal, transcrição de genes e tradução a proteínas com atividades específicas contra o patógeno alvo e, via de regra, culmina com a morte das células no sítio de infecção. Na interação gene a gene a planta fica protegida contra o patógeno desafiante, mas as respostas produzidas não protegerão a planta contra infecção por outros patógenos. Neste capítulo não abordaremos este tipo de resposta de defesa. Para maiores detalhes sobre este padrão de resposta, pode-se consultar a revisão de Jones e Dangl (2006).

Na resposta a MAMPs, receptores transmembrânicos, denominados receptores de reconhecimento de padrões, respondem de forma semelhante ao anterior ou de forma mais lenta e de menor intensidade, geralmente não culmina com a morte celular e, não raro, a resposta é de amplo espectro, ou seja, uma vez ativada a resposta ela é capaz de controlar patógenos de diferentes grupos, insetos e pode inclusive aumentar a tolerância ao estresse abiótico.

O caminho para a indução de resistência se inicia pela percepção do sinal ou molécula eliciadora. Logo em seguida, é desencadeada a transdução do sinal no citoplasma até atingir o núcleo e é induzida a transcrição ou repressão de genes imbuídos na resistência da planta a estresses.

Neste capítulo serão abordadas as características da indução de resistência na tolerância a estresses bióticos e abióticos, as moléculas indutoras e os produtos desenvolvidos à base de microrganismos vivos ou extratos vegetais e os desafios a serem superados no uso destes produtos no manejo de doenças de plantas.

### Existe sistema imunológico em plantas?

Diferentemente dos animais, as plantas não possuem um sistema imunológico propriamente dito, mas há algumas semelhanças entre ambas as respostas, conforme resumido na Tabela 1. Hoje, muitos produtos comerciais são constituídos de MAMPs e, erroneamente, é feita a analogia com uma vacina usada em animais. A diferença marcante mostrada é que a vacina usada em animais não requer reaplicações em curto espaço de tempo, o que deve ser feito em plantas para manutenção da ativação das respostas de defesa e manejo dos estresses bióticos e/ou abióticos em questão.

**Tabela 1.** Semelhanças nas respostas a patógenos entre animais e plantas

Característica	Animais	Plantas
Reconhece	Sim	
Responde	Sim	
Relembra	Sim	Não
Células especializadas na resposta	Sim	Não. Toda célula vegetal viva potencialmente responde ao estímulo

Adaptado de Nurnberger et al. (2004)

### Quais são essas moléculas que podem induzir respostas de defesa em plantas?

As MAMPs podem ser de diversas naturezas, como constituintes estruturais dos microrganismos ou moléculas por eles produzidas,

recentemente revisado por Resende et al. (2010). Os constituintes estruturais de microrganismos capazes de ativar as respostas imunes em plantas são flagelos encontrados em bactérias móveis (RAMOS et al., 2004); lipopolissacarídeo (ZEIDLER et al., 2004), componente da parede celular de bactérias gram-negativas e quitina, molécula constituinte da parede celular de fungos (IRITI, FAORO, 2009). Há moléculas que têm funções primárias no metabolismo microbiano, mas que também são reconhecidas pelo vegetal como MAMPs. Alguns exemplos destas moléculas são as proteínas de choque térmico frio (*cold shock protein*), com função de chaperona; ou o fator de alongação Tu que participa da síntese de proteínas em bactérias. Outras moléculas são frutos do metabolismo secundário do microrganismo e têm função antibiótica, mas também pode ser reconhecida como MAMP pelo vegetal. O lipopeptídeo fengicina (ONGENA et al., 2010) e o glicolípido rhamnolípido, um potente biosurfactante (VARNIER et al., 2009), ambos produzidos por bactérias, possuem a capacidade de inibir o crescimento de outros microrganismos, mas também são capazes de ativar genes de defesa da planta.

Surpreendentemente, a planta também possui “autoindutores” como hormônios e constituintes estruturais. Quando hormônios vegetais, como ácido salicílico ou ácido jasmônico são aplicados exogenamente é observada a ativação de genes de defesa (PASCOLATI et al., 2010). O ácido salicílico foi, inclusive, usado como molde para a síntese do benzothiadiazole, uma molécula sintética, parte do produto comercial Bion (Syngenta), que dispara respostas de defesa da planta (CASTRO, 2010). Outros constituintes vegetais como os oligogalacturonídeos também são reconhecidos por receptores específicos no vegetal. Os galacturonídeos são constituintes estruturais da parede celular vegetal e são liberados pela ação de poligalacturonases produzidas por fitopatógenos (RESENDE et al., 2010). Esta molécula indutora de resistência, derivada do

hospedeiro, é denominada de padrão molecular associada ao dano (em inglês *damage associated molecular pattern* DAMP).

### **A importância da determinação da MAMP**

A determinação de moléculas eliciadoras e os receptores que as reconhecem ainda é um campo vasto para a pesquisa e sua determinação é importante para o controle de qualidade de produtos que tenham estas moléculas como princípio ativo. Em geral, a descoberta de novos eliciadores ocorre a partir de moléculas presentes na natureza em compostos que têm a capacidade de induzir resistência. O acibenzolar-S-metil, por exemplo, é uma molécula sintética análoga ao ácido salicílico, um hormônio vegetal que participa da sinalização secundária que culmina com a ativação de genes envolvidos na defesa. Em alguns casos, o composto natural que induz a resistência pode conter mais de uma molécula eliciadora. Essa é uma característica que pode garantir sua eficiência de controle de doenças em diferentes hospedeiros, tendo em vista que nem todas as plantas possuem os mesmos receptores capazes de reconhecer as MAMPs, conforme revisado por Resende et al. (2010).

Dentre as respostas induzidas, pode ocorrer o acúmulo de espécies reativas de oxigênio, proteínas com função metabólica ou com atividade antimicrobiana direta e a formação de barreiras físicas.

As funções metabólicas com atividade aumentada são, principalmente, fatores de transcrição, receptores, proteínas envolvidas na transdução de sinal e enzimas como a fenilalanina amonia liase que inicia uma rota metabólica que participa da síntese de fitoalexinas que têm atividade antimicrobiana e lignina que reforça a parede celular. Por outro lado, é importante mencionar que nem sempre o fenótipo desejado de defesa é fruto da super-expressão de genes,

mas pode advir de sua sub-expressão, ou seja, redução na transcrição daqueles genes específicos. Por exemplo, reduzindo a transcrição de genes envolvidos na síntese de lignina em alfafa como *hydroxycinnamoyl CoA: shikimate hydroxycinnamoyl transferase* (HCT), a planta acumula flavonoides com atividade antimicrobiana bem como melhor digestibilidade por ruminantes (GALLEGO-GIRALDO et al., 2011).

## Eventos da indução de resistência

### Acúmulo de espécies reativas de oxigênio

Um dos eventos marcantes da resposta imune de plantas é a explosão oxidativa. Em suma, o processo envolve o acúmulo rápido e transitório de grandes quantidades de espécies ativas de oxigênio (EAO). Ela ocorre na interação de resistência do tipo gene a gene, mas foi assinalada também como resultado da ação de MAMPs (JONES; DANGL, 2006). As EAOs têm três papéis principais:

- » destruir a célula infectada pelo patógeno, confinando-o ao sítio de infecção;
- » inibir o crescimento de microrganismos que não possuem enzima de catálise destas moléculas tóxicas; e
- » ser mensageiro secundário, atuando na ativação de respostas de defesa e reforço da parede celular.

Quando se trata de interação gene a gene, os três papéis das EAOs são reportados (BUCHANAN, 2000). Por outro lado, as EAOs produzidas na resistência imune, desencadeada por MAMPs, têm apenas o papel de mensageiro secundário e são funcionais tanto pela não persistência da MAMP no seu sítio de reconhecimento quanto pela rápida produção de enzimas de limpeza desses radicais, como

as peroxidases fazendo, assim, com que se tenha uma homeostase da quantidade de EAOs requerida para o efeito desejado. Este acúmulo de EAOs, em geral, não é o suficiente ou pelo menos não persiste o tempo necessário para causar a morte celular, conforme demonstrado para os estudos com surfactina (JOURDAN et al., 2009).

### **Rotas de sinalização em função da MAMP**

Em resposta a uma MAMP a planta aumenta a síntese de um mensageiro secundário. Esse mensageiro é uma molécula que se liga a fatores de transcrição e ativam genes envolvidos na defesa ou pode ser um único átomo como é o caso do cálcio. Em resposta ao ataque de patógenos, ditos biotróficos (como os agentes etiológicos de ferrugens e oídios) a planta acumula o ácido salicílico e este, por sua vez, irá se ligar a fatores de transcrição que ativarão genes envolvidos na defesa (como PR-1). Nesta rota de defesa, refere-se como indução de resistência adquirida (a sigla em inglês SAR) (BOSTOCK, 2005). Por outro lado, patógenos necrotróficos (como os agentes etiológicos do mofo branco ou cinzento), rizobactérias, ferimentos ou insetos induzem a um acúmulo de ácido jasmônico e/ou etileno seguido da ativação de genes de defesa diferentes (como PDF1.2) daqueles observados para a SAR e esta rota de defesa é denominada de ISR (GLAZEBROOK, 2005).

Apesar do modelo de respostas padrões aos microrganismos com modo de parasitismo particular serem relatados como o consenso (MEDEIROS et al., 2011), há exceções à regra. Em pesquisas com mutantes de *Arabidopsis thaliana*, seletivamente defectivos para a produção de cada um dos mensageiros secundários (etileno e os ácidos salicílico e jasmônico), Bakker et al. (2010) demonstraram

que há isolados de rizobactérias que seguem o padrão do modelo de ISR, mas há outras que seguem um padrão de SAR e, outras ainda que não seguem nenhum dos padrões, ou seja, a ativação de genes de defesa não envolve o acúmulo de mensageiros secundários conhecidos.

Outras situações em que não se pode encontrar a rota predominante de sinalização de respostas de defesa são quando se usam eliciadores mistos, ou seja, contendo várias moléculas eliciadoras distintas. Os extratos de plantas e o uso de mistura de microrganismos na indução de resistência são alguns exemplos. Um extrato de folhas de café induz resistência em tomate contra a mancha bacteriana (*Xanthomonas vesicatoria*), mas a rota de sinalização não envolve um padrão claro de associação com a ISR ou SAR, sendo encontrados genes marcadores de ambas as rotas de sinalização como a ativação de proteínas relacionadas à patogênese (PR1 e glucanase), mas também a ativação da PDF2.3 que codifica para a defensina, resposta típica de ISR.

### **O pré-condicionamento ou *priming***

Na verdade, quando plantas são induzidas, elas podem não acumular níveis significativos de enzimas relacionadas à defesa, mas estarão presentes uma vez que o patógeno inicia a colonização. Este fenômeno ausência de resposta significativa antes e presença após a presença do patógeno é denominado de pré-condicionamento ou *priming* como é referido em inglês (CONRATH et al., 2002).

Tanto microrganismos, quanto extratos e óleos vegetais podem induzir o *priming* e isto representa um ganho metabólico, pois não é gasta energia para mobilizar as ferramentas bioquímicas de defesa se o patógeno eventualmente não estiver presente (HULTEN et al., 2006).

### **Barreiras físicas à infecção**

Como respostas à aplicação de um indutor de resistência, pode-se induzir alterações físicas na célula vegetal que contém o patógeno e/ou evitar a sua penetração. As principais barreiras físicas estudadas como resposta às MAMPs são depósito de papila e lignificação. O assunto foi recentemente revisado por Tumelero et al. (2011). As papilas são depósitos de material heterogêneo entre a membrana plasmática e a parede celular no sítio de infecção, um destes materiais depositados é a lignina. A lignificação dos tecidos é um processo que ocorre naturalmente nas plantas para garantir rigidez ao tecido, principalmente nas hastes. O processo também é uma linha de defesa contra patógenos e consiste no depósito de polímeros na parede celular e nas papilas. Sua composição predominante é de fenólicos, originados da rota dos fenilpropanóides. Uma vez depositado sobre a parede celular vegetal, aumenta sua resistência à ruptura pelo apressório fúngico e reduz a ação de enzimas líticas ou difusão de toxinas para o interior da célula.

### **Barreiras químicas à infecção**

Conforme mencionado anteriormente, nas respostas a MAMPs, em geral, as espécies reativas de oxigênio não culminam com a morte celular nem participam ativamente das respostas de defesa direta contra patógenos. Todavia, diversas outras substâncias produzidas em resposta à indução, também apresentam atividade direta sobre o patógeno. Existem, portanto, as respostas intrinsecamente associadas a cada uma das rotas metabólicas (ISR e SAR) bem como aquelas comuns a ambas, como a rota dos fenilpropanóides (flavonóides, taninos e fenois). É importante notar que as respostas bioquímicas observadas não são apenas tóxicas a fitopatógenos microbianos, mas também podem ter atividade sobre fitonematóides, insetos e ácaros (PIETERSE et al., 2004).

Em relação às pragas o benefício pode advir do controle direto do inseto ou ácaro (ação deterrente alimentar ou tóxica). Os níveis de alcaloides tóxicos a *Spodoptera frugiperda* se elevam quando *Lolium perenne* é tratado com *Acremonium lolii*, um fungo endófito (BULTMAN; GANEY, 1995). Por outro lado, a indução de resistência pode advir dos menores níveis de atrativo alimentar como o triterpenoide cucurbitacina em cucurbitáceas. Quando rizobactérias foram usadas para o tratamento de sementes de pepino, foram observados menores níveis do atrativo, e não preferência da planta pelos insetos *Diabrotica undecimpunctata howardi* e *Acalymma vittatum*. Além do dano direto, esses insetos também são vetores de *Erwinia tracheiphila* que causa a murcha em pepino (Yao *et al.* 1996), uma bactéria quarentenária no Brasil, e a não preferência mediada pela rizobactéria pode reduzir também a transmissão de um fitopatógeno. Infelizmente, os estudos do efeito da indução de resistência a pragas ainda são recentes (KARBAN; KUC, 1999), mas podem representar uma importante ferramenta no manejo integrado de pragas.

### **Indução de tolerância ao estresse hídrico**

Uma das linhas recentemente exploradas na pesquisa em indução de resistência diz respeito à indução de tolerância a estresse abiótico. Tanto eliciadores bióticos como abióticos podem induzir essas alterações desejáveis em plantas (YANG *et al.*, 2009). O mecanismo pelo qual as plantas se tornam tolerantes ao estresse, e a inter-relação entre a indução de resistência a estresse biótico e tolerância a abióticos, ainda precisam ser melhor pesquisados. Até o momento, sabe-se que pelo menos duas MAMPs foram relatadas como responsáveis por este benefício, a cadaverina (CASSAN *et al.*, 2009) e o 2,3 butanediol (CHO *et al.*, 2008).

As respostas induzidas em plantas tratadas com MAMPs e descritas até então, envolvem o acúmulo de osmoprotetores, como prolina (SANDHYA et al., 2010) ou colina (ZHANG et al., 2010) acompanhado da redução no teor de ácido abscísico e espécies reativas de oxigênio. Em casos onde não foi relatado o aumento de osmoprotetores, as respostas induzidas nas plantas foram redução nos níveis do ácido abscísico e aumento da atividade de enzimas de detoxificação de espécies ativas de oxigênio como a catalase gluconal redutase (CASSAN et al., 2009; KOHLER, 2008). Ao que parece, o acúmulo de osmoprotetores é uma primeira linha de tolerância e, se superada ou não ativada, a planta tem a segunda linha de indução que é o acúmulo de enzimas de detoxificação e retardamento da senescência mediada pelo ácido abscísico.

### **Quando o controle observado é resultado de uma indução de resistência?**

No início dos estudos do século XX, estabeleceram-se requisitos para que se considere que o controle observado seja resultado de uma indução de resistência. Estas condições foram listadas por Steiner e Schönbeck (1995): ausência de efeito tóxico do agente indutor sobre o patógeno, supressão da resistência induzida pela exposição prévia da planta a substâncias que inibem a expressão de genes do hospedeiro, necessidade de um intervalo de tempo entre a exposição da planta ao indutor e a expressão da resistência, não haver efeito dose-resposta, inespecificidade da proteção, resistência local e sistêmica, e dependência do genótipo da planta. Algumas destas características podem ser observadas na comparação entre duas rizobactérias selecionadas para o controle da mancha angular (*Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*), uma apresenta características exclusivas de indução de resistência e outra a característica de antibiose (Tabela 2).

**Tabela 2.** Comparação entre o controle da mancha angular do algodoeiro (*Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*) mediado por uma rizobactéria pela indução de resistência e por antibiose

Característica	Indução de resistência (ISHIDA et al., 2008a)	Antibiose (ARYA; PARASHAR, 2002)
Tempo de resposta	7 dias	2 dias
Efeito dose-resposta	Não tem	Controle proporcional à dose
Atividade direta	Não	Sim (sideróforos, ácido hidrocínâmico e redução de pH)
Atividade indireta	Peroxidase e PAL	Não ativa respostas de defesa

Muitos desses critérios, na verdade, são mais características que condições *sine qua non* da indução de resistência de plantas. Ainda são requisitos para que se considere o controle observado como resultado da indução de resistência: a ativação de genes marcadores destas respostas e a necessidade de um tempo para que se observem as respostas.

Com as descobertas científicas, desde 1995, pode-se observar que há eventos de indução de resistência concomitantes à atividade direta contra patógenos. Por exemplo, uma mesma rizobactéria pode produzir tanto lipopeptídeos com atividade direta (iturina), quanto indireta (surfactina) contra patógenos ou até mesmo um lipopeptídeo com ambas as atividades (fengicina), conforme demonstrado por Ongena et al. (2010). Além do mais, a separação espacial entre o sítio de aplicação do indutor e aquele de infecção nem sempre ocorre. Quando rizobactérias são usadas para o controle do tombamento causado por *Rhizoctonia solani*, ambos os microrganismos podem colonizar o caule de plantas, mas genes da planta são diferencialmente expressos em plantas tratadas com a rizobactéria em relação à não tratada, ambas inoculadas com o patógeno, em um padrão de resposta característico de resposta de defesa do tipo ISR (MEDEIROS et al., 2011).

Por outro lado, o efeito de ausência de efeito dose-resposta é controverso. Quando se testam doses crescentes de um determinado indutor, tem-se efeito de controle crescente, até que se atinja uma provável saturação dos receptores da MAMP e um máximo potencial de resposta do hospedeiro; desta dose em diante, não se tem maior efeito de controle, pode-se inclusive ter efeito deletério sobre o desenvolvimento vegetal, o chamado custo metabólico. Um exemplo que ilustra bem esse padrão de resposta a doses crescentes do eliciador foi observado por Mandal et al. (2008). O acibenzolar-S-metil induziu resistência em fumo contra *Tomato spotted wilt virus* a partir de 1 g i.a./7000 plantas. Concentrações superiores a esta levaram a um mesmo resultado com nenhuma lesão local diagnóstica da infecção, mas observou-se fitotoxicidade com doses mais altas que esta, caracterizada por lesões com centro esbranquiçado, lesão esta bem distinta daquela causada pelo vírus que tem centro amarronzado.

A dependência do hospedeiro continua sendo uma característica importante. Conforme mencionado anteriormente, para que haja indução de resistência, há necessidade de que a planta possua o receptor para reconhecimento da MAMP em questão. Para uma mesma MAMP, pode haver diferenças entre plantas hospedeiras e até mesmo entre cultivares de uma mesma espécie. Em um experimento onde foi observada em diferentes cultivares de tomate tratadas com a dose recomendada de acibenzolar-S-metil, a expressão do gene que codifica para uma PR-1, um marcador de SAR, foi monitorada ao longo do tempo (HERMAN et al., 2007). Após uma primeira aplicação, todas as cultivares tiveram um padrão semelhante de resposta. Contudo, após uma segunda aplicação, aos sete dias, duas das cultivares, Supersonic e Rio Grande, tiveram expressão máxima do gene, enquanto a terceira (Rutgers) apenas apresentou sua máxima expressão dois dias após aplicação. Outra diferença marcante entre as cultivares foi a abundância de transcritos do

gene. A cultivar Supersonic teve uma quantidade três vezes maior que a obtida para a cultivar Rutgers, que foi a segunda a apresentar maior resposta entre as três cultivares testadas. Outro aspecto importante a ser considerado é a duração da resposta. Aos 10 dias após o tratamento, as três cultivares produziram uma abundância de transcritos semelhante, mas todas com curva decrescente, denotando, talvez, uma necessidade de reaplicação do produto.

A dinâmica da indução de resistência mediada pelo uso de microrganismos é ainda mais complexa. Na realidade o que vai ser reconhecido também é uma MAMP, que pode ser um metabólito por ele produzido ou até mesmo um de seus constituintes estruturais como a flagelina. A grande diferença do uso de um microrganismo vivo e de uma molécula ou *pool* de moléculas eliciadoras (como por exemplo, um extrato vegetal) é que para o microrganismo induzir resistência em plantas é necessário não apenas da presença do receptor específico à(s) MAMP (s), mas também da interação de colonização compatível, ou seja, o microrganismo tem que possuir a capacidade de se multiplicar usando os nutrientes liberados pela planta ou acumulados sobre ela para exercer o benefício de indução de resistência. A grande vantagem é que, uma vez compatível, pode não ser necessária a reaplicação do microrganismo, diferentemente do observado para extratos de plantas.

Com esta preocupação, Nihorimbere et al. (2009) testaram diferentes fontes de nutrientes para a produção *in vitro* de surfactina. O aspartame e o glutamato foram aqueles que induziram uma produção da MAMP em quantidade semelhante àquele obtido em bactérias crescidas em exsudato radicular de tomate. Provavelmente, os exsudatos de tomate contêm estes nutrientes que não apenas suportam o crescimento da rizobactéria, como também estimulam a produção de surfactina. Portanto, pelo conhecimento de moléculas indispensáveis ao crescimento e colonização de raízes, pode-se ter os marcadores da eficiência de biocontrole do microrganismo

em diferentes plantas e diferentes períodos de desenvolvimento do microrganismo, pela simples análise quantitativa da presença do(s) nutriente(s) em questão no exsudato radicular da planta.

Em relação à sistemicidade e amplo espectro da resposta, em geral, ocorrem na indução de resistência, mas deve-se considerar que há exceções para ambos as características. Um extrato da planta *Reynoutria sachalinensis*, denominado comercialmente de Milsana, induz o acúmulo de fenólicos em pepino e protege plantas contra o oídio (*Podosphaera xanthii*) (DAAYF et al., 1997), mas esta indução de resistência é local e não sistêmica, nem envolve o acúmulo da quitinase conforme evidenciado mais tarde por Wurms et al. (1999).

Na seleção de rizobactérias com capacidade de indução de resistência contra a mancha angular do algodoeiro, Ishida et al. (2008b) obtiveram resultados que *Bacillus cereus* L2-1 reduzia a severidade da doença em até 40%. No entanto, o isolado obtido não foi capaz de controlar a ramulose (*Colletotrichum gleosporioides* var. *cephalosporioides*) ou a murcha de verticílio (*Verticillium dahliae*), uma evidência da seletividade da resposta de indução de resistência mediada pela rizobactéria.

### **Qual a importância de se determinar se o mecanismo de ação é a indução de resistência?**

Um defensivo agrícola natural à base de um microrganismo vivo, extrato ou óleo vegetal, pode ter atividade direta ou indireta contra fitopatógenos ou pragas. Em quaisquer dos casos, o uso do produto deve ser sempre feito preventivamente, pois altas pressões de inóculo do patógeno podem não surtir o efeito de controle desejável. Todavia, é importante determinar se o mecanismo é direto ou indireto. No caso de mecanismo indireto, o principal é a indução de resistência. Algumas diferenças entre os dois mecanismos de

ação mais comuns foram apresentados na Tabela 2 e denotam a importância de se determinar se o controle observado é atribuído à indução de resistência.

Uma vez que se sabe que se trata de indução de resistência, há implicações acerca do intervalo de aplicação, cuidados na dose a ser aplicada e espectro de ação, aspectos estes bem diferentes da antibiose. Portanto, a determinação do mecanismo de ação tem implicação direta sobre a forma como será usado o produto e as formas como se deve primar para a manutenção de sua eficiência e a aceitação pelo produtor.

Ainda não se tem relato de perda de eficiência de um indutor de resistência, mas seu mau uso pode levar a reduções em produtividade e conseqüente abandono de uso pelo produtor. Conforme já discutido, uma vez que o mecanismo de ação do defensivo agrícola é a indução de resistência, torna-se imprescindível que haja um esforço conjunto da indústria e da assistência técnica para se ter um produto de qualidade com recomendações técnicas já estabelecidas.

Do lado da indústria deve-se buscar determinar a dose mínima para exercer o controle, o intervalo de aplicação, gama de doenças e pragas controladas e fração(ões) ativa(s) do produto, bem como a(s) compatibilidades do produto com outros defensivos e com as práticas de manejo adotadas. A assistência técnica deve treinar o produtor sobre estas informações e lançar as demandas de pesquisa para a indústria, como por exemplo, a compatibilidade com produtos ainda não contemplados ou extensão de uso em outras culturas. Maiores detalhes serão abordados no tópico 8 sobre desafios a serem superados por defensivos agrícolas naturais que agem por indução de resistência.

## Estudos de caso

Diversos microrganismos e extratos vegetais foram relatados como eficientes no manejo de doenças de plantas. A seguir, serão relatados dois principais resultados obtidos com uma rizobactéria e um extrato vegetal na indução de resistência de plantas, desenvolvidos pelo grupo de pesquisa em interação planta-patógeno do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras.

### **Rizobactérias na indução de resistência: prospecção, mecanismos de ação, resultados em campo e caminho para a obtenção de um bioproduto (MEDEIROS et al., 2011)**

Diversos fitopatógenos habitantes do solo podem induzir murcha em plantas como sintoma reflexo. Dentre as respostas da planta à infecção por este tipo de patógeno são ativados genes tipicamente relacionados à resistência que culminam com a produção de proteínas relacionadas à patogênese (RAN et al., 2005). Há ainda uma diversidade de genes também ativados como os relacionados à síntese de osmoprotetores (glicose sintase), proteínas chaperonas relacionadas à proteção (*heat shock protein*) e proteína de transporte hídrico transmembrânico (aquaporina).

As rizobactérias também podem induzir resistência em plantas e quando usadas preventivamente, podem controlar infecção por patógenos vasculares (CHEN et al., 1995; RAN et al., 2005). Conforme mencionado anteriormente, quando a planta está infectada com um patógeno que causa murcha ou déficit hídrico, respostas convergentes foram identificadas (FUJITA et al., 2006). Alguns desses genes podem, inclusive, ser ativados ou pré-condicionados quando realizada a aplicação preventiva com uma rizobactéria, conforme mostrado por Cho et al. (2008). Esta representa uma importante estratégia a ser explorada futuramente.

Após a seleção massal de rizobactérias epi e endofíticas de raízes de algodão, chegou-se a uma endofítica *Bacillus subtilis* UFLA285 que, quando usada para o tratamento de sementes, protegeu as plantas tanto contra o tombamento quanto contra a mancha angular, uma doença de etiologia fúngica (*Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*) e uma de etiologia bacteriana (*Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*) (MEDEIROS et al., 2008). O tombamento em algodoeiro é de etiologia diversa, mas a referida bactéria foi capaz de controlar, não apenas aquele causado por *C. gleosporioides*, como também aquele causado por *R. solani*. Na verdade, este controle apenas ocorreu quando o patógeno foi inoculado quatro dias após a germinação. A necessidade de um tempo para que a planta resista à infecção é uma característica do mecanismo de indução de resistência; todavia, poderia ser simplesmente a necessidade de um tempo para que a bactéria se estabelecesse na rizosfera, aumentasse sua população e passasse a sintetizar antibióticos com atividade direta sobre o patógeno em uma regulação do tipo *quorum sensing* (DANIELS et al., 2004).

Portanto, foi necessário buscar outra evidência de que a bactéria estava agindo por indução de resistência. Considerando que uma das condições *sine qua non* para se considerar o mecanismo como sendo, pelo menos em parte, a indução de resistência, a ativação de genes e expressão de enzimas são relatadas como envolvidas em respostas de defesa (HAMMERSCHMIDT; KUC, 1995).

Então, foram escolhidos genes depositados no *Genebank* por Dowd et al. (2004) que codificam para quitinase (CHI), proteína induzida pelo etileno (PIE) e peroxidase (POX), genes estes expressos quando plantas de algodão foram inoculadas com *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*. Aos dez dias após o plantio foi observada a maior expressão de PIE, sendo o efeito maior em tecido do caule do que em tecido de raiz, com expressão de aproximadamente 5 e 3 vezes àquela observada nas plantas não tratadas, respectiva-

mente. Diariamente, dos 10 aos 13 dias após a semeadura, todas as amostras de caule mostraram indução do gene PIE, um indicativo da participação do etileno na resposta de defesa tipo ISR, aquela tipicamente disparada por rizobactérias. A expressão de POX não foi tão intensa (3) nem constante (apenas no último período amostrado) e a de CHI foi inalterado a fracamente (1,5 vezes) induzido. Um gene marcador é um indicativo de indução de resistência, mas não é a prova final. Visando-se ter um ideia mais clara sobre as respostas predominantemente ativadas como resultado do tratamento com a rizobactéria foi estudada a expressão global de genes por microarranjo específico para algodão (UDALL et al., 2007). Do total de genes estudados foi observada expressão diferenciada como resultado do tratamento com a rizobactéria em um total de 247 genes. Estes foram divididos em diversas categorias de acordo com sua função.

A categoria com o maior número de genes com expressão alterada foi aquela que englobou esses genes tipicamente relacionados à defesa (12% do total), com pelo menos 93% deles induzidos (indução > 1,4), tanto codificando para moléculas envolvidas na síntese de molécula sinalizadora como ácido jasmônico (lipoxigenase e aleno oxido ciclase), como aqueles envolvidos na síntese de metabólitos com atividade putativamente antimicrobiana direta (lisozima, proteína semelhante à taumatina, proteína de resistência induzida 13, principal alérgeno da cereja e proteína de resistência semelhante à resistência a Oomiceto em *Quercus* sp); os genes participantes da rota dos fenilpropanóides (fenilalanina amônia liase, ácido cafeico O-metil transferase, 2-hidroxisoflavona redutase, cinamoil CoA redutase e Dihidroflavonol 4 redutase) e enzimas de limpeza de espécies reativas de oxigênio (glutathione-S-transferase, peroxidase, dehidroascorbato redutase, tiorredoxina, proteína da família de MATE, citocromo P450 e fosfatase ácida roxa).

Um último grupo associado à tolerância a estresse foi a pirrolina-5-carboxilato sintetase, com expressão 1,65 vezes maior que a testemunha. Na realidade, esses dois genes estão associados à tolerância ao estresse abiótico. Como o parasitismo de *R. solani* está associado à degradação de tecidos do caule, inclusive aqueles dos vasos condutores, a planta ativa genes para otimizar o uso da água nos vasos condutores que ainda lhe restam, além de genes com atividade antimicrobiana direta para conter a colonização do patógeno.

A pirrolina-5-carboxilato sintetase é uma das enzimas que participam da síntese de prolina a partir de ácido glutâmico (DELAUNEY; VERMA, 1993). O aminoácido produto desta rota está associado à resistência de plantas ao estresse hídrico. Ele foi quantificado quatro dias após inoculação das plantas ou plantas sem irrigação durante o mesmo período. O efeito da inoculação no acúmulo de prolina foi significativamente superior ao estresse hídrico e o tratamento com a rizobactéria induziu a um aumento no conteúdo do aminoácido ainda maior que em plantas não tratadas, ambas inoculadas com os patógenos. O acúmulo do aminoácido tem sido relacionado a duas funções principais: proteção da RUBISCO e redução do potencial osmótico da célula (ROSA et al., 1995).

De fato, uma manutenção da taxa fotossintética de plantas foi observada em plantas tratadas com a rizobactéria em relação àquelas não tratadas, ambas inoculadas com *R. solani*. Aos 17 dias após o plantio, oito dias após a inoculação, a fotossíntese das plantas inoculadas e não tratadas estava próximo a zero, enquanto aquela de plantas tratadas com *B. subtilis* UFLA285 e inoculadas apresentavam uma taxa fotossintética 25% inferior ao de plantas não inoculadas; mas essa diferença momentânea não se refletiu em redução no peso seco de plantas aos 25 dias após o plantio (Tabela 3).

**Tabela 3.** Peso seco da parte aérea de plantas de algodão aos 25 dias após o plantio (DAP). Tratadas (+285) ou não tratadas (-285) com *Bacillus subtilis* UFLA285 e inoculadas ou não com *Rhizoctonia solani* AG4 aos 9 DAP.

Inoculação Tratamento	Não <sup>NS</sup>	Sim*
+UFLA285	0,99	0,93
-UFLA285	0,91	0,49

<sup>NS</sup>diferença não significativa, \*diferença significativa Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Os trabalhos agora estão voltados para a produção massal e formulação desta rizobactéria para poder, em breve, oferecer os benefícios encontrados na pesquisa para os produtores, não apenas de algodão, mas também de feijão e tomate, culturas para as quais a rizobactéria também tem demonstrado eficiência no controle de doenças bacterianas causadas por *Xanthomonas vesicatoria* (FERRO et al., 2011) e *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (MARTINS et al., 2013).

### Extrato de planta na indução de resistência (MEDEIROS et al., 2009)

Um extrato de folhas de café (RESENDE et al., 2006) foi testado para o controle da mancha bacteriana do tomateiro (*Xanthomonas vesicatoria*) e o resultado foi semelhante ao indutor de resistência acibenzolar-S-metil, um dos produtos comerciais registrados para controle desta e de outras fitobacterioses (AGROFIT, 2011).

O extrato é uma combinação de moléculas potencialmente eliciadoras da resistência, como oligogalacturonídeos (DAMP), moléculas efetoras originadas de patógenos e microrganismos saprófitas (MAMP) e é capaz de controlar não apenas doenças bacterianas, mas também fúngicas (BARGUIL et al., 2005, SANTOS et al., 2007), uma evidência do possível papel indutor do extrato vegetal.

Semelhante ao procedimento adotado para o caso do algodão (7.1) foi feito um estudo da expressão global dos genes hoje conhecidos de tomate, usando um chip de microarranjo disponível comercialmente (<http://ted.bti.cornell.edu/cgi-bin/TFGD/array>).

Com a aplicação do extrato sobre plantas de tomate, foi observado, em tecidos foliares, a expressão diferencial de 268 genes, 80% dos quais foram super-expressos, dentre eles foram encontrados principalmente genes envolvidos em eventos de sinalização, transdução de sinal e proteínas relacionadas à defesa.

Nos eventos de sinalização de transdução, os genes que codificam para proteínas ativadas por mitógenos (MAP3K e MAPKK) foram super-expressos, assim como componentes de sinalização dependentes de cálcio (calmodulina e fosfatidilinositol), mas nenhum marcador da rota de sinalização típica do ácido salicílico ou jasmônico. Quando se observaram os genes de final de rota, a maioria deles era diretamente relacionada à rota dependente do ácido salicílico [PR-1, proteína de transferência de lipídeo TSW12, endoquitinase básica, proteína precursora de heveína (PR-4), proteína VIP2, endo- beta 1,4- -glucanase, proteína de resistência a doença (classe de NBS-LRR), glucana endo- beta 1,3-glucosidase], exceto defensina (PDF2.3) que é associada à rota de sinalização iniciada pelo jasmonato/etileno (PIETERSE; LOON, 1999). As atividades das enzimas glucanase, quitinase e peroxidase foram significativamente superiores nas plantas tratadas a partir das 24h após o tratamento.

Portanto, pode-se levantar três hipóteses: uma indução de PRs independente de eventos de sinalização SAR ou ISR, conforme observado em outras situações (FRICK; SCHALLER, 2002); uma indução dependente de SAR ou ISR, mas os genes de sinalização não estariam entre os conhecidos, já que o chip usado apenas representa 12.160 genes, um terço do tamanho do genoma completo

de tomate. Trabalhos futuros deverão investigar se realmente essa indução ocorre independente das rotas de sinalização conhecidas até para determinar a compatibilidade com outros indutores que atuem em sítios de ação semelhantes. Vale salientar também que o extrato não é exclusivamente um indutor de resistência, mas a exemplo do composto Milsana, também tem atividade inibitória direta a bactérias.

Atualmente esse extrato, formulado sob o nome de Greenforce, está sendo produzido pela empresa Agrofiness e testado, principalmente, para o controle do oídio do eucalipto e ferrugem do cafeeiro.

### **Desafios da indução de resistência: *from bench to field/ market***

Os defensivos agrícolas naturais, que tenham como mecanismo de ação a indução de resistência, apresentam potencial de uso tanto na agricultura convencional quanto orgânica. Como não tem atividade direta contra patógeno não há risco de seleção de população resistente. Entretanto, deve-se atentar a alguns desafios que ainda devem ser superados para maior aceitação pelo produtor.

Neste sentido, vários aspectos podem ser levantados no tocante ao controle de qualidade e conhecimento técnico aprofundado sobre o produto.

#### **Controle de qualidade**

O controle de qualidade é uma preocupação compartilhada por produtores, órgãos de fiscalização (Defesa Estadual e Federal) e pela indústria de produtos. Ora, empresas sérias que primam por altos padrões de qualidade acabam sofrendo uma concorrência desleal com a inundação de produtos de menor custo, mas também com menor qualidade, o que leva à descrença do produtor. Em relação

ao controle de qualidade de microrganismos, o projeto intitulado “Desenvolvimento de metodologia analítica e amostral para avaliação de conformidade e da inocuidade de produtos comerciais formulados à base de agentes microbianos de biocontrole”, financiado pelo CNPq, sob coordenação da Embrapa Meio Ambiente, em parceria com o Instituto Biológico, EPAMIG, Embrapa Arroz e Feijão, UFPel e Ceplac, organiza periodicamente, treinamentos sobre as metodologias validadas pelo grupo na Embrapa Meio Ambiente.

Em relação aos extratos e óleos vegetais, é consenso a necessidade de se determinar a(s) fração(ões) responsável(is) pelo controle e, desta forma, poder garantir na indústria, que o produto seja sempre produzido com as concentrações mínimas. Nos moldes do que já é rotina para fitoterápicos, a indústria de extratos e óleos vegetais também busca esta padronização do produto (FORIM et al., 2010).

### **Conhecimento técnico do produto**

O defensivo agrícola que age por indução de resistência tem características particulares que devem ser investigadas pela indústria e o produtor também deve ser muito bem instruído a respeito das características peculiares do produto.

Os detalhes importantes a serem considerados pela indústria são a determinação do intervalo e *timing* de aplicação do produto. O intervalo de aplicação vai depender da duração das respostas de defesa; concentrações superiores ou intervalos inferiores ao determinado podem até exercer a mesma eficiência de controle, mas podem incorrer no risco de custo metabólico com efeitos adversos sobre a produtividade. O produto deve ser aplicado preventivamente, antes do estabelecimento do patógeno. Em geral, o indutor de resistência não é capaz de controlar a doença sob altas pressões de inóculo. Para alguns patossistemas, como a ferrugem asiática da soja, os resultados de campo com uso de indutores de resistên-

cia não se mostraram satisfatórios (CARVALHO, 2010). Isso pode ser atribuído a uma rápida multiplicação do patógeno e/ou a capacidade do patógeno em superar as barreiras químicas e físicas pré-formadas, conforme já assinalado para diversos patossistemas (HOK et al., 2010).

Também devem ser conhecidas das interações com outros produtos ou com o meio. Outros produtos também podem ter alguma atividade sobre a fisiologia da planta, como é o caso de fungicidas à base de estrobilurinas, necessitando saber se da combinação dos produtos e/ou sobreposição de períodos residuais de produtos, estes efeitos serão neutros, sinérgicos (BOKSHI et al., 2008) ou antagônicos em relação ao benefício de controle esperado e produtividade de plantas. Em relação à calda, se a molécula indutora for uma proteína ácida pode perder eficiência se o pH da calda for básico e vice-versa. Note que o pH também pode interferir no crescimento do microrganismo, no caso de produtos que contenham microrganismos vivos como agentes indutores de resistência. A extensão de registro para outras culturas também deve ser considerada. Há indutores de resistência comerciais sem registro que, além do problema de controle de qualidade, por não passar no crivo de registro do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, acabam também não tendo necessariamente sua eficiência de controle de doenças comprovada nas culturas a que se deseja fazer o uso, bem como às diferentes cultivares. Ora, nem sempre a planta possui o receptor específico para a molécula indutora usada, ou o patógeno agente etiológico possui a capacidade de burlar o sistema de defesa disparado pelo indutor. Ainda em relação à planta hospedeira, vale ressaltar que o indutor não age sobre o patógeno, mas sim sobre o hospedeiro e, portanto, a planta deve estar bem nutrida, principalmente para os nutrientes que sejam cofatores das principais rotas de síntese putativamente induzidas em resposta ao tratamento. Por exemplo, foi observado que quando larvas da tra-

ça-das-crucíferas (*Plutella xylostella*) foram alimentadas com folhas de repolho oriundas de plantas tratadas, apenas 40% delas empuparam, contra 98,3% em plantas não tratadas. O controle ocorreu tanto em períodos de alta (518,4 mm) quanto de baixa (186,8 mm) precipitação durante os três meses de duração do ensaio, mas o controle efetivo ocorreu 15 dias antes no período seco (MEDEIROS et al., 2005).

## **Conclusão**

Os defensivos agrícolas naturais, que agem predominantemente por indução de resistência, são importantes ferramentas tanto para o manejo orgânico quanto para o manejo convencional de doenças de plantas. Seu uso pode ajudar a prevenir e/ou remediar a ocorrência de populações de pragas e patógenos resistentes a agrotóxicos.

Diferentemente dos antibióticos, fungicidas e inseticidas, os indutores de resistência, em geral, não agem diretamente sobre o microrganismo, mas sim sobre as plantas hospedeiras. Estas, uma vez tratadas, têm ativadas respostas de defesa que culminam com barreiras químicas ou físicas para controlar um ou mais praga e/ou patógeno. Além do mais, o indutor de resistência pode ajudar as plantas a tolerarem estresses abióticos como o déficit hídrico.

Entretanto, estes produtos não controlam doenças em estádios avançados e, portanto, devem ser aplicados preventivamente e o tratamento deve ser repetido conforme prescrito pelo fabricante, sem extrapolar ou reduzir a dose recomendada e não usar em cultura para o qual não se tenha recomendação.

## Agradecimentos

Esta pesquisa recebeu o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), provendo apoio financeiro à execução de parte do trabalho e bolsa. Os autores também agradecem à Texas Technology University pelo apoio na realização dos trabalhos de microarranjo.

## Referências

- AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. Amsterdam: Elsevier Academic Press, 2005. 922 p.
- AGROFIT: sistema de informação. [Brasília, DF]: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 2011.
- ARYA, S.; PARASHAR, R. D. Biological control of cotton bacterial blight with phyloplane bacterial antagonists. **Tropical Agriculture**, Saint Augustine, v. 79, n. 1, p. 51-55, 2002.
- BAKKER, P. A. H. M.; DOORNBOS, D. C.; van LOON, L. C. Induced systemic resistance (ISR) and plant disease control. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA A PATÓGENOS, 5., Lavras. **Indução de resistência: novos conceitos e aplicações: anais**. Lavras: UFLA, 2010. p. 41-56.
- BARGUIL, B. M.; RESENDE, M. L. V.; RESENDE, R. S, BEZERRA JUNIOR, J. E. A.; SALGADO, S. L. Effect of extracts from citric biomass, rusted coffee leaves and coffee berry husks on *Phoma costarricensis* of coffee plants. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 30, n. 30, p. 535-537, 2005.
- BOKSHI, A. I.; JOBLING J.; MCCONCHIE, R. A single application of Milsana(R) followed by Bion (R) assists in the control of powdery mildew in cucumber and helps overcome yield losses. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, Ashford, v. 83, n. 6, p. 701-706, 2008.
- BOSTOCK, R. M. Signal crosstalk and induced resistance: straddling the line between cost and benefit. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 43, p. 545-580, 2005.

BULTMAN, T. L.; GANEY, D. T. Induced resistance to fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) mediated by a fungal endophyte. **Environmental Entomology**, College Park, v. 24, n. 5, p. 1196-1200, 1995 .

BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. **Biochemistry and molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000. 1367 p.

CASSAN, F.; MAIALE, S.; MASCIARELLI, O.; VIDALC, A.; LUNAA, V.; RUIZ, O. Cadaverine production by *Azospirillum brasilense* and its possible role in plant growth promotion and osmotic stress mitigation. **European Journal of Soil Biology**, Paris, v. 45, n. 1, p. 12-19, 2009.

CASTRO, R. M. Bion: muito além da resistência a doenças de plantas. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA A PATÓGENOS, 5., Lavras. **Indução de resistência: novos conceitos e aplicações: anais**. Lavras: UFLA, 2010. p. 157-160.

CHEN, C.; BAUSKE, E. M.; MUSSON, G.; RODRÍGUEZ-KÁBANA, R.; KLOEPER, J. W. Biological control of Fusarium wilt on cotton by use of endophytic bacteria. **Biological Control**, Orlando, v. 5, n. 1, p. 83-91, 1995.

CHO, S. M.; KANG, B. R.; HAN, S. H.; ANDERSON, A. J.; PARK, J. Y.; LEE, Y. H.; CHO, B. H.; YANG, K. Y.; RYU, C. M.; KIM, Y. C. 2R,3R-Butanediol, a bacterial volatile produced by *Pseudomonas chlororaphis* O6, is involved in induction of systemic tolerance to drought in *Arabidopsis thaliana*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 21, n. 8, p. 1067-1075, 2008.

CONRATH, U.; PIETERSE, C. M. J.; MAUCH-MANI, B. Priming in plant-pathogen interactions. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 7, n. 5, p. 210-21, 2002.

DAAYF, F.; SCHMITT, A.; BELANGER, R. R. Evidence of phytoalexins in cucumber leaves infected with powdery mildew following treatment with leaf extracts of *Reynoutria sachalinensis*. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 113, n. 3, p. 719-727, 1997.

DANIELS, R.; VANDERLEYDEN, J.; MICHIELS, J. Quorum sensing and swarming migration in bacteria. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam, v. 28, n. 3, p. 261-289, 2004.

DELAUNEY, A. J.; VERMA, D. P. S. Proline synthesis and osmoregulation in plants. **Plant Journal**, Oxford, v. 4, n. 4, p. 215-223, Oct. 1993.

DOWD, C.; WILSON, I. W.; MCFADDEN, H. Gene expression profile changes in cotton root and hypocotyl tissues in response to infection with *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 17, n. 6, p. 654-667, 2004.

FERRO, H. M.; SOUZA, R. M.; ZACARONI, A. B.; ZANOTTO, E.; NOGUEIRA, C. C. A.; MEDEIROS, F. H. V. *Bacillus subtilis* UFLA285 e ASM no controle da mancha bacteriana do tomateiro via tratamento de sementes e pulverização da parte aérea. In: **Tropical Plant Pathology**, Brasília, DF, v. 36, p. 1414, 2011. 1 CD-ROM. Suplemento. Edição dos resumos do 44º Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 2011, Bento Gonçalves.

FORIM, M. R.; MATOS, A. P.; DA SILVA, M. F. G. F.; CASS, Q. B.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B. Uso de CLAE no controle de qualidade em produtos comerciais de Nim: reprodutibilidade da ação inseticida. *Química Nova*, São Paulo, v. 33, n. 5, 2010.

FRICK, U. B.; SCHALLER, A. cDNA microarray analysis of fusicoccin-induced changes in gene expression in tomato plants. **Planta**, Berlin, v. 216, n. 1, p. 83-94, 2002.

GALLEGO-GIRALDO, L.; JIKUMARU, Y.; KAMIYA, Y.; TANG, Y.; DIXON, R. A. Selective lignin down regulation leads to constitutive defense response expression in alfalfa (*Medicago sativa* L.) **New Phytologist**, Oxford, v. 190, n. 3, p. 627-639, 2011.

GLAZEBROOK, J. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 43, p. 205-227, 2005.

HAMMERSCHMIDT, R.; KUC, J. (Ed.). **Induced resistance to disease in plants**. Dordrecht: Springer, 1995. 183 p. (Developments in Plant Pathology, v. 4).

HERMAN, M. A. B.; RESTREPO, S.; SMART, C. D. Defense gene expression of three SAR-induced tomato cultivars in the field. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 71, n. 4-6, p. 92-200, 2007.

HOK, S.; ATTARD, A.; KELLER, H. Getting the most from the host: how pathogens force plants to cooperate in disease. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 23, n. 10, p. 1253-1259, 2010.

- HULTEN, M. van; PELSER, M.; LOON, L. C. van; PIETERSE, C. M. J.; TON, J. Costs and benefits of priming for defense in *Arabidopsis*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, DC, v. 103, n. 14, p. 5602-5607, 2006.
- IRITI, M.; FAORO, F. Chitosan as a MAMP, searching for a PRR. **Plant Signaling & Behavior**, Georgetown, v. 4, n. 1, p. 66-68, 2009.
- ISHIDA, A. K. N.; SOUZA, R. M.; RESENDE, M. L. V.; CAVALCANTI, F. R.; OLIVEIRA, D. L.; POZZA, E. A. Rhizobacterium and acibenzolar-S-methyl (ASM) in resistance induction against bacterial blight and expression of defense responses in cotton. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, DF, v. 33, n. 1, p. 27-34, 2008a.
- ISHIDA, A. K. N.; SOUZA, R. M.; RESENDE, M. L. V.; ZACARONI, A. B.; VILAS BÔAS, C. H.; SOUZA, J. T. Rhizobacteria to control cotton bacterial blight. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 1, p. 149-156, 2008b.
- JONES, J. D. G.; DANG, J. L. The plant immune system. **Nature**, London, v. 444, n. 7117, p. 323-329, 2006.
- JOURDAN, E.; HENRY, G.; DUBY, F.; DOMMES, J.; BARTHELEMY, J. P.; THONART, P.; ONGENA, M. Insights into the defense-related events occurring in plant cells following perception of surfactin-type lipopeptide from *Bacillus subtilis*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 22, n. 4, p. 456-468, 2009
- KARBAN, R. ; J. KUC, J. Induced resistance against herbivores and pathogens: an overview. In: AGRAWAL, A. A.; TUZAN, S.; BENT, E. (Ed.). **Inducible plant defenses against pathogens and herbivores: biochemistry, ecology, and agriculture**. St. Paul: American Phytopathological Society, 1999. p. 1-16.
- KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Ceres, 2005, 663 p.
- KOHLER, J. Plant-growth-promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi modify alleviation biochemical mechanisms in water-stressed plants. **Functional Plant Biology**, Collingwood, v. 35, n. 2, p. 141-151, 2008.
- MANDAL, B.; MANDAL, S.; CSINOS, A. S.; MARTINEZ, N.; CULBREATH, A. K.; PAPPU, H. R. Biological and molecular analyses of the acibenzolar-S-methyl-induced systemic acquired resistance in flue-cured tobacco against *Tomato spotted wilt virus*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 98, n. 2, p. 196-204, 2008

MARTINS, S. J.; MEDEIROS, F. H. V.; SOUZA, R. M.; RESENDE, M. L. V.; RIBEIRO JUNIOR, P. M. Biological control of bacterial wilt of common bean by plant growth-promoting rhizobacteria. **Biological control**, Orlando, v. 66, n. 1, p. 65-71, 2013.

MEDEIROS, F. H. V.; SILVA, G.; MARIANO, R. L. R.; BARROS, R. Effect of bacteria on the biology of diamondback moth (*Plutella xylostella*) on cabbage (*Brassica oleraceae* var. *capitata*) cv. Midori. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, Recife, v. 3, p. 204-211, 2005.

MEDEIROS, F. H. V.; SOUZA, R. M.; FERRO, H. M.; MEDEIROS, F. C. L.; POME-LA, A. W. V.; MACHADO, J. C., SANTOS NETO, H.; SOARES, D.A.; ZANOTTO, E.; PARE, P. W. *Bacillus* sp. to manage seed-born *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* damping-off. **Phytopathology**, St. Paul, v. 98, p. S102, 2008.

MEDEIROS, F. C. L.; RESENDE, M. L. V.; MEDEIROS, F. H. V.; ZHANG, H. M.; PARE, P. W. Defense gene expression induced by a coffee leaf extract formulation in tomato. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 74, n. 2, p. 175-183, 2009.

MEDEIROS, F. H. V.; SOUZA, R. M.; MEDEIROS, F. C. L.; ZHANG, H.; WHEELER, T.; PAYTON, P.; FERRO, H. M.; PARÉ, P. W. Transcriptional profiling in cotton associated with *Bacillus subtilis* (UFLA285) induced biotic-stress tolerance. **Plant and Soil**, The Hague, v. 347, n. 1-2, p. 327-337, 2011.

NIHORIMBERE, V.; FICKERS, P.; THONART, P.; ONGENA, M. Ecological fitness of *Bacillus subtilis* BGS3 regarding production of the surfactin lipopeptide in the rizosphere. **Environmental Microbiology Reports**, Hoboken, v. 1, n. 2, p. 124-130, 2009.

NURNBERGER, T.; BRUNNER, F.; KEMMERLING, B.; PIATER, L. Innate immunity in plants: striking similarities and obvious differences. **Immunological Reviews**, Copenhagen, v. 198, p. 249-266, 2004.

ONGENA, M.; JOURDAN, E.; HENRY, G.; THONART, P. Unraveling the roles of lipopeptides on ISR. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA A PATÓGENOS, 5., Lavras. **Indução de resistência: novos conceitos e aplicações: anais**. Lavras: UFLA, 2010. p. 57-70.

PASCHOLATI, S. F.; BLUMER, S.; REZENDE, D. C.; BRAND, S. C. Resistência sistêmica adquirida (SAR) x resistência sistêmica induzida (ISR). In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA A PATÓGENOS, 5., Lavras. **Indução de resistência: novos conceitos e aplicações: anais**. Lavras: UFLA, 2010. p. 29-40.

PIETERSE, C. M. J.; LOON, L. C. van. Salicylic acid-independent plant defence pathways. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 4, n. 2, p. 52-58, 1999.

PIETERSE, C. M. J.; PELT, J. A. van; WEES, S. C. M. van; TON, J.; VERHAGEN, B. W. M.; LÉON-KLOOSTERZIEL, K.; HASE, S.; VOS, M. de; OOSTEN, V. V.; POZO, M.; SPOEL, S.; ENT, A. van der; KOORNNEEF, A.; LOON, L. C. van. Rhizobacteria-induced systemic resistance and pathway cross-talk to fine-tune defense. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS, 2.; SIMPÓSIO DE CONTROLE DE DOENÇA DE PLANTAS, 4., 2004, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2004. p. 44-58.

RAN, L. X.; LI, Z. N.; WU, G. J.; LOON, L. C. van; BAKKER, P. A. H. M. Induction of systemic resistance against bacterial wilt in *Eucalyptus urophylla* by fluorescent *Pseudomonas* spp. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 113, n. 1, p. 59-70, 2005.

RAMOS, H. C.; RUMBO, M.; SIRAD, J. C. Bacterial flagelins: mediators of pathogenicity and host immune responses in mucosa. **Trends in microbiology**, v. 12, n. 11, p. 509-517, 2010.

RESENDE, M. L. V.; CAVALCANTI, F. R.; SANTOS, F. S.; RIBEIRO, J. R. P.M.; AMARAL, D. R. Brazilian Patent Universidade Federal de Lavras. **Formulação para indução de resistência em plantas, a base de extrato vegetal obtido de folhas do cafeeiro**. BR 0000220604167501. 2 Aug. 2006.

RESENDE, M. L. V.; PEREIRA, R. B.; LUCAS, G. C.; FERRO, H. M.; PEREIRA, V. F.; LORENZETTI, E. R.; LELIS, F. M. V.; ALMEIDA, J. E. M.; SIQUEIRA, C. S.; FERNANDES, L. H. M. O papel dos MAMPs na imunidade em plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 18, p. 1-50, 2010.

ROSA, M. de la; MAITI, R. K. Biochemical mechanism in glossy sorghum lines for resistance to salinity stress. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 146, n. 4, p. 515-519, 1995.

SANDHYA, V.; ALI, S. K. Z.; GROVER, M.; REDDY, G.; VENKATESWARLU, B. Effect of plant growth promoting *Pseudomonas* spp. on compatible solutes, antioxidant status and plant growth of maize under drought stress. **Plant Growth Regulation**, The Hague, v. 62, n. 1, p. 21-30, 2010.

SANTOS, F. S.; SOUZA, P. E.; RESENDE, M. L. V.; POZZA, E. A.; MIRANDA, J. C.; RIBEIRO JÚNIOR, P. M.; MANERBA, F. C. Efeito de extratos vegetais no progresso de doenças foliares do cafeeiro orgânico. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 32, n. 1, p. 59-63, 2007.

STEINER, U.; SCHÖNBECK, F. Induced disease resistance in monocots. In: HAMMERSCHMIDT, R.; KUC, J. (Ed.). **Induced resistance to disease in plants**. Dordrecht: Springer, 1995. p. 86-110. (Developments in Plant Pathology, v. 4).

TUMELERO, A. I.; GOMES, D. E.; LIMA, M. I. P. M.; TONIN, R. B.; DENARDIN, N. D. Mecanismo de defesa das plantas em resposta à interação com patógenos. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 19, p. 272-291, 2011.

UDALL, J. A.; FLAGEL, L. E.; CHEUNG, F.; WOODWARD, A. W.; HOVAV, R.; RAPP, R. A.; SWANSON, J. M.; LEE, J. J.; GINGLE, A. R.; NETTLETON, D.; TOWN, C. D.; CHEN, Z. J.; WENDEL, J. F. Spotted cotton oligonucleotide microarrays for gene expression analysis. **BMC Genomics**, London, v. 8, n. 8, p. 81, 2007.

VARNIER, A. L.; SANCHEZ, L.; VATSA, P.; BOUDESOCQUE, L.; GARCIA-BRUGGER, A.; RABENOELINA, F.; SOROKIN, A.; RENAULT, J. H.; KAUFFMANN, S.; PUGIN, A.; CLEMENT, C.; BAILLIEUL, F.; DOREY, S. Bacterial rhamnolipids are novel MAMPs conferring resistance to *Botrytis cinerea* in grapevine. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 32, n. 2, p. 178-193, 2010.

WURMS, K.; LABBÉ, C.; BENHAMOU, N.; BÉLANGER, R. R. Effects of Milsana and benzothiadiazole on the ultrastructure of powdery mildew haustoria on cucumber. **Phytopathology**, St. Paul, v. 89, n. 9, p. 728-736, 1999.

YANG, J.; KLOEPPER, J. W.; RYU, C. M. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 14, n. 1, p. 1-4, 2009.

ZEIDLER, D.; ZHRINGER, U.; GERBER, I.; DUBERY, I.; HARTUNG, T.; BORS, W.; HUTZLER, P.; DURNER, J. Innate immunity in *Arabidopsis thaliana*: lipopolysaccharides activate nitric oxide synthase (NOS) and induce defense genes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, DC, v. 101, n. 44, 15811-15816, 2004.

ZHANG, H.; MURZELLO, C.; SUN, Y.; KIM, M. S.; XIE, X.; JETER, R. M.; ZAK, J. C.; DOWD, S. E.; PARÉ, P. W. Choline and osmotic-stress tolerance induced in arabidopsis by the soil microbe *Bacillus subtilis* (GB03). **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 23, n. 8, p. 1097-1104, 2010.

## Uso dos fungos *Sphaceloma poinsettiae* e *Bipolaris euphorbiae* como micoherbicidas no controle de *Euphorbia heterophylla*

Kátia L. Nechet, Robert W. Barreto e Bruno S. Vieira

---

### Introdução

*Euphorbia heterophylla* L. pertence à família botânica Euphorbiaceae e é nativa da América tropical e subtropical, com ampla distribuição geográfica no País, sendo popularmente conhecida como leiteiro, leiteira ou amendoim-bravo (LORENZI, 2000). A espécie é caracterizada por sua elevada competitividade e agressividade. Seu potencial de competição é indicado por sua alta capacidade de produção de sementes por área, dispersão e rápido desenvolvimento (PARSONS; CUTHBERTSON, 1992), maturação dos frutos não simultânea, possibilitando a produção de sementes por longo período (COSTA, 1982), e é capaz ainda de regeneração adventícia quando parte de seu caule é danificado ou removido por ação de herbicidas ou capina (COSTA, 1987). Além da redução na produtividade *E. heterophylla* interfere na colheita mecanizada e transfere umidade aos grãos colhidos devido ao látex que produz (KISSMANN; GROTH, 1992).

A importância agrícola dessa planta deve-se à sua frequente presença em culturas economicamente importantes como milho (DUARTE; DEUBER, 1999), cana-de-açúcar (AZANIA et al., 2009;

MARTINS et al., 1999) e soja, sendo considerada uma das principais invasoras da cultura da soja no Brasil (VOLL et al., 2002; CARVALHO et al., 2010).

O principal recurso utilizado para o controle do leiteiro nos campos de soja é o uso de herbicidas inibidores da enzima acetolactato sintase (ALS). No entanto, a aplicação consecutiva desses produtos na mesma área tem resultado no aparecimento de populações resistentes, promovendo falhas no manejo desta invasora (VIDAL; FLECK, 1992; GAZZIERO et al., 1998; GELMINI et al., 2001). A situação pode ainda se agravar caso ocorra a disseminação de biótipos com resistência múltipla aos herbicidas inibidores da ALS e inibidores da PROTOX (protoporfirinogênio oxidase) cuja existência já foi reconhecida (TREZZI et al., 2006) e, ainda mais se isso ocorrer com os biótipos de *E. heterophylla* relatados como resistentes ao herbicida glifosato em campos de produção de soja transgênica no Rio Grande do Sul (VIDAL et al., 2007).

Este contexto de dificuldades no manejo químico de uma das mais importantes invasoras da agricultura brasileira representa uma oportunidade para a utilização de estratégias alternativas para o controle de *E. heterophylla*, como o uso de mico-herbicidas (CHARUDATTAN, 2001). A estratégia inundativa ou de mico-herbicida envolve o uso de fungos fitopatogênicos endêmicos que são produzidos em massa, formulados e aplicados de modo semelhante a um herbicida químico onde a população da planta invasora está estabelecida (AULD, 1997).

Há cerca de trinta anos, iniciou-se no Brasil, o primeiro programa de controle biológico de plantas daninhas visando ao desenvolvimento de um mico-herbicida, tendo como alvo *E. heterophylla*. O fungo estudado como agente de biocontrole foi *Bipolaris euphorbiae* (Hansford) Muchovej, inicialmente identificado como *Helminthosporium* sp. Os primeiros resultados mostraram que, em condições de

campo, o fungo causou severa desfolha em plantas de *E. heterophylla* no estágio de florescimento, época não recomendada para o herbicida químico acifluorfen sódico, e impediu que essas plantas produzissem sementes (YORINORI, 1985). No entanto, uma das limitações encontradas foi a existência de populações de *E. heterophylla* com graus variáveis de suscetibilidade a *B. euphorbiae*, sendo uma delas destacada como resistente ao fungo (YORINORI; GAZZIERO, 1989). Paralelamente a isso, o lançamento, pela indústria, de herbicidas eficientes no controle da invasora e mudanças de prioridades em pesquisa na EMBRAPA Soja, além de outras causas, contribuíram para interromper o programa.

A continuada importância de *E. heterophylla*, renovada pela emergência e disseminação de biótipos resistentes a herbicidas, justifica a busca de novos agentes de biocontrole, como revisto por Barreto e Evans (1988) que apontaram a existência de outros fungos fitopatogênicos associados à *E. heterophylla*, em particular de *Sphaceloma poinsettiae* Jenkins & Reuhle com aparente potencialidade para ser desenvolvido como mico-herbicida.

Tanto *B. euphorbiae* como *S. poinsettiae* causam epifitias naturais que levam as plantas de *E. heterophylla* à morte. Os sintomas causados por *B. euphorbiae* são inicialmente manchas foliares que evoluem para desfolha severa das plantas, danos no caule e morte de plantas (Figura 1A), enquanto *S. poinsettiae* causa lesões corticóides (verrugas) no caule e nas folhas das plantas. Em plantas com severidade alta da doença, ocorre coalescimento de lesões e estrangulamento do caule (Figura 1B) que resulta na morte de plantas (BARRETO; EVANS, 1988). Os autores observaram morte rápida em plântulas infectadas por *S. poinsettiae* enquanto que plantas mais velhas apresentavam apenas alongação dos internódios e inibição do florescimento e frutificação.



Fotos: Robert Weingart Barreto

**Figura 1.** Sintoma causado por *Bipolaris euphorbiae* (A) e *Sphaceloma poinsettiae* (B) em plantas de *Euphorbia heterophylla* em condições naturais.

Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos na seleção de isolados de *B. euphorbiae* e *S. poinsettiae* baseada na virulência elevada a populações de *E. heterophylla*, na especificidade dos isolados selecionados seguindo o método centrífugo-filogenético (WAPSHERE, 1974), em estudos epidemiológicos dos patossistemas e sobrevivência do inóculo em armazenamento.

### Obtenção de isolados

Amostras de *E. heterophylla* com sintomas de *Bipolaris* ou *Sphaceloma* foram coletadas nos estados de Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Paraná e Rio Grande do Sul. Esse material foi herborizado e incorporado à coleção micológica do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa. Os isolados obtidos foram conservados *in vitro* pelo método de preservação

em sílica-gel (DHINGRA; SINCLAIR, 1995). O isolado TAD de *B. euphorbiae* foi doado pelo pesquisador J.T. Yorinori, da Embrapa Soja, e utilizado em trabalhos prévios de controle biológico do leiteiro (Tabelas 1 e 2).

**Tabela 1.** Origem e codificação dos isolados de *Bipolaris euphorbiae*

Código	Origem
KLN01	Viçosa, MG
KLN02	Sete Lagoas, MG
KLN05	Venda Nova, ES
KLN09	Araruama, RJ
KLN16	Niterói, RJ
TAD <sup>1</sup>	Londrina, PR

<sup>1</sup> Isolado doado por J.T. Yorinori, da Embrapa Soja, e utilizado na maioria dos trabalhos anteriores com controle biológico de *E. heterophylla* no Brasil.

**Tabela 2.** Origem e codificação dos isolados de *Sphaceloma poinsettiae*

Código	Origem
KLN01	Viçosa, MG
KLN12	Italva, RJ
KLN13	Campos, RJ
KLN14	Italva, RJ
KLN16	Niterói, RJ
KLN21	Viçosa, MG
RWB273	Foz do Iguaçu, RS
RWB274	Nova Laranjeira, PR
RWB280	Nova Petrópolis, RS
RWB281	Mafra, PR

### Seleção de isolado de *Bipolaris euphorbiae*

Para a seleção foram utilizadas sementes oriundas de nove populações de *E. heterophylla* listadas na Tabela 3 para obtenção de plantas no estágio de três a quatro pares de folhas definitivas, totalizando 324 plantas (seis plantas/isolado/população). As plantas foram inoculadas com os seis isolados de *B. euphorbiae* (Tabela 1) utilizando uma suspensão de  $1 \times 10^4$  conídios.mL<sup>-1</sup> (obtida pela técnica difásica seguindo metodologia de Walker (1980)) + Tween 20 a 0,05% (polioxietileno monolaurático) + Break thru® a 0,05% (copolímero poliéter-polimetil siloxano + poliéter) e mantidas por 24 horas em câmara úmida ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ /fotoperíodo 12 horas). Posteriormente as plantas foram transferidas para casa de vegetação ( $26 \pm 2^\circ\text{C}$ ) e a incidência de doença foi estimada com base na proporção de folhas doentes após sete dias da inoculação.

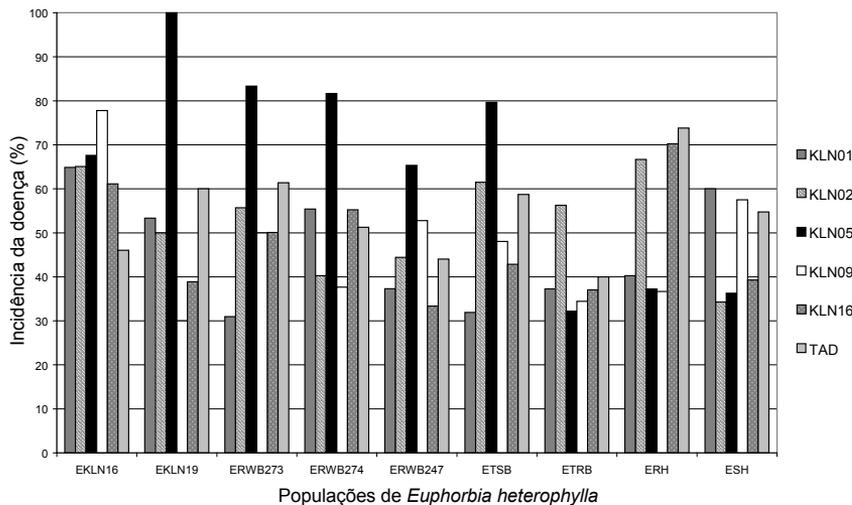
**Tabela 3.** Origem das populações de *Euphorbia heterophylla* utilizadas na seleção de isolado de *Bipolaris euphorbiae*

Código	Origem
EKLN16	Niterói, RJ
EKLN19	Viçosa, MG
ERWB247	Itabuna, BA
ERWB 273	Foz do Iguaçu, PR
ERWB 274	Nova Laranjeira, PR
ETSB <sup>1a</sup>	Londrina, PR
ETRB <sup>1b</sup>	Londrina, PR
ESH <sup>2a</sup>	Viçosa, MG
ERH <sup>2b</sup>	Viçosa, MG

<sup>1</sup> Populações doadas por J. T. Yorinori, da Embrapa Soja e identificadas como suscetível (a) e resistente à *B. euphorbiae* (b).

<sup>2</sup> Populações doadas por A. A. da Silva (Laboratório de Herbicida na Planta, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa) e identificadas pelo pesquisador como suscetível (a) e resistente (b) ao herbicida imazetaphyr.

Todos os isolados foram patogênicos às populações de leiteiro utilizadas. Entretanto, não se observou diferença estatística para a incidência da doença nas populações inoculadas com esses isolados ( $p=0,30$ ) (Figura 2). Para algumas interações planta versus isolado foram observadas intensa desfolha e morte da parte aérea da planta.



**Figura 2.** Incidência da doença (%) em populações de *Euphorbia heterophylla* sete dias após a inoculação com isolados de *Bipolaris euphrobiae*. A incidência de doença em plantas mortas foi considerada como 100%. Média de três repetições.

Embora não tenha sido observada diferença estatística da incidência da doença entre os isolados, foi selecionado KLN05 para os estudos complementares uma vez que a maioria das plantas inoculadas com esse isolado, exceto as das populações ERH, ESH e ETRB, apresentaram incidência da doença variando de 62 a 100%.

### Seleção de isolado de *Sphaceloma poinsettiae*

Para a seleção foram utilizadas sementes oriundas de nove populações de *E. heterophylla* listadas na Tabela 3 para obtenção de plantas no estágio de três a quatro pares de folhas definitivas, totalizando 540 plantas (seis plantas/isolado/população). As plantas foram inoculadas com 10 isolados *S. poinsettiae* (Tabela 2) com uma suspensão de micélio triturado na concentração de  $1 \times 10^4$  ufc.mL<sup>-1</sup> (produzido em meio de Batata Dextrose por 10 dias a 25°C, em agitação a 168 rpm, segundo metodologia de Nechet et al., 2004), + Tween 20 a 0,05% + Break thru® a 0,05%, mantidas por 24 horas em câmara úmida (25± 2°C/fotoperíodo 12 horas). Posteriormente as plantas foram transferidas para casa de vegetação (26± 2°C). Após o aparecimento dos sintomas a severidade da doença foi avaliada a cada sete dias, durante 30 dias, baseada numa escala de notas de 0 (planta sem sintomas) a 6 (planta morta) (NECHET et al., 2004). Os dados foram transformados em porcentagem usando o índice de McKiney (MCKINEY, 1923) e utilizados para o cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) (CAMPBELL; MADDEN, 1990).

**Tabela 4.** Origem das populações de *Euphorbia heterophylla* utilizados na seleção de isolado de *Sphaceloma poinsettiae*

Código	Origem
EKLN16	Niterói, RJ
EKLN19	Viçosa, MG
ERWB 247	Itabuna, BA
ERWB 274	Nova Laranjeira, PR
ERWB 280	Nova Petrópolis, RS
ETSB <sup>1a</sup>	Londrina, PR
ETRB <sup>1b</sup>	Londrina, PR

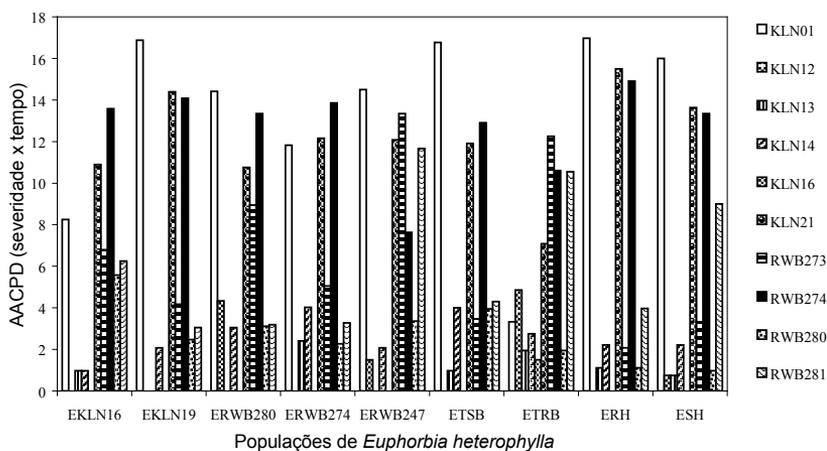
Continua...

Código	Origem
ESH <sup>2a</sup>	Viçosa, MG
ERH <sup>2b</sup>	Viçosa, MG

<sup>1</sup> Populações doadas por J. T. Yorinori, Embrapa Soja e identificadas como suscetível (a) e resistente à *B. euphorbiae* (b).

<sup>2</sup> Populações doadas por A. A. da Silva (Laboratório de Herbicida na Planta, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa) e identificadas pelo pesquisador como suscetível (a) e resistente (b) ao herbicida imazetaphyr.

Todos os isolados de *S. poinsettiae* foram patogênicos à *E. heterophylla* com variação de severidade entre os isolados. Os maiores valores de AACPD foram observados em plantas inoculadas com KLN01, RWB274 e KLN21 (Figura 3). A maioria das plantas inoculadas com KLN01 e RWB274 desenvolveu verrugas e apresentou estrangulamento do caule que, em alguns casos, levou as plantas à morte. Em função da severidade observada nas plantas da população ETRB inoculadas com RWB274, esse isolado foi selecionado para os estudos posteriores. O controle das plantas dessa população é considerado fundamental para o desenvolvimento de um micro-herbicida para *E. heterophylla*.

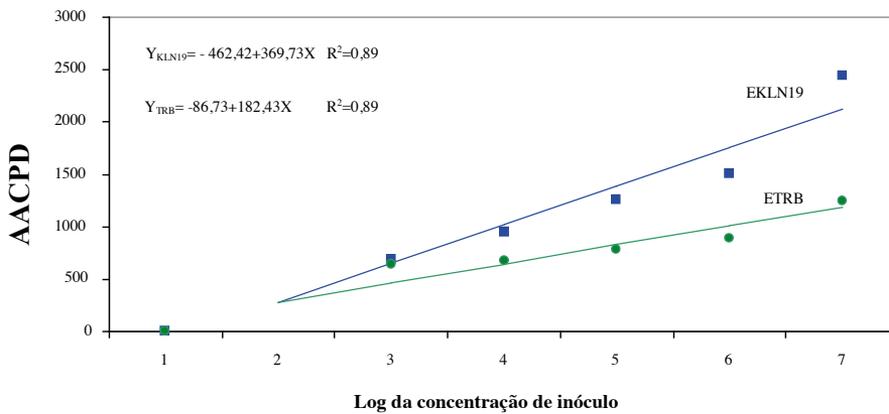


**Figura 3.** Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em populações de *Euphorbia heterophylla* após a inoculação com isolados de *Sphaceloma poinsettiae*. Média de três repetições.

### Efeito da concentração de inóculo na incidência e severidade das doenças

Nos estudos de otimização das condições de inoculação foram selecionadas para uso as populações EKLN19 e ETRB de *Euphorbia heterophylla* classificadas previamente como suscetível e resistente à *B. euphorbiae* (Tabela 4). Plantas pertencentes às duas populações, com dois pares de folhas definitivas foram inoculadas com suspensões de inóculo, preparadas de acordo com a mesma metodologia descrita anteriormente, contendo  $10^3$ ,  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$  e  $10^7$  conídios.mL<sup>-1</sup> (para *B. euphorbiae*) e ufc.mL<sup>-1</sup> (para *S. poinsettiae*) + Tween 20 a 0,05% + Break thru® a 0,05% e mantidas por 24 horas em câmara úmida ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ /fotoperíodo 12 horas). Dois experimentos foram conduzidos separadamente para o isolado RWB274 de *S. poinsettiae* e o isolado KLN05 de *B. euphorbiae*. As avaliações seguiram o mesmo procedimento descrito anteriormente na etapa de seleção de cada isolado.

Para o isolado de *B. euphorbiae* a curva de progresso da doença elevou-se com o aumento da concentração de inóculo em ambas as populações (Figura 4). O maior valor de incidência da doença foi observado nas plantas EKLN19 inoculadas com  $10^7$  conídios.mL<sup>-1</sup> e uma mortalidade de 80% foi observada nesse tratamento. Não houve morte de plantas na população ETRB nesse ensaio. Os valores de incidência foram maiores nas plantas EKLN19 do que em ETRB, com exceção da inoculação com  $10^3$  conídios.mL<sup>-1</sup>, onde não se observou diferença entre as populações.



**Figura 4.** Efeito da concentração de inóculo do isolado KLN05 de *Bipolaris euphorbiae* na área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) nas populações EKLN19 e ETRB de *Euphorbia heterophylla*. Média de cinco repetições.

A severidade máxima obtida com a inoculação do isolado RWB274 foi a nota 1 da escala de avaliação de *S. poinsettiae* (traço de verruga). Esse valor foi abaixo do obtido na etapa de seleção inicial quando se utilizou fragmentos de micélio como inóculo. Plantas inoculadas com suspensões nas concentrações de  $10^3$  e  $10^4$  conídios.mL<sup>-1</sup> não apresentaram sintomas e o aumento da concentração de  $10^5$  a  $10^7$  não resultou em aumento da doença (dados não apresentados).

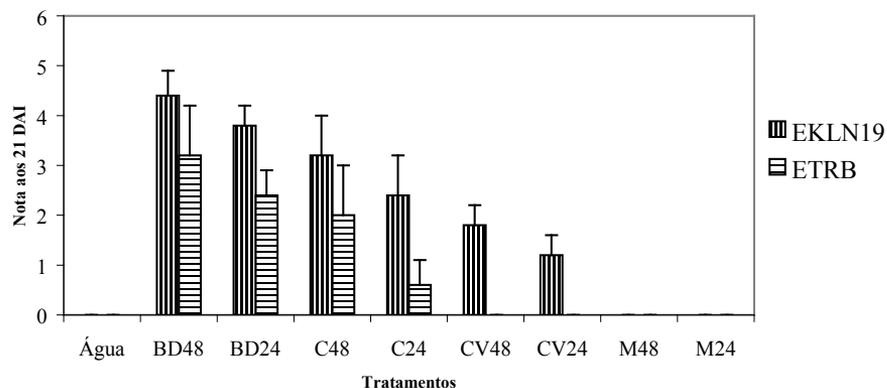
Em função desse resultado realizou-se um ensaio para verificar o efeito do meio de cultura na qual o isolado foi produzido sobre a virulência do inóculo.

#### Efeito do meio de cultura na virulência de *Sphaceloma poinsettiae* RWB274

O inóculo foi obtido a partir do crescimento do isolado nos seguintes meios de cultura na forma líquida: batata dextrose-BD, caldo de

cenoura-C (200 g cenoura, 20 g dextrose, 1 L água), caldo de folha de mandioca-M (200 g folha de mandioca, 20 g dextrose, 1 L água) e caldo vegetal-CV (PEREIRA et al., 2003) sem adição de agar. Em Erlenmeyers de 125 mL contendo 50 mL de meio líquido foram semeados cinco discos de micélio do isolado RWB274 obtido de uma cultura de 10 dias formada em meio de batata dextrose agar a ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ / fotoperíodo de 12 horas). Após o semeio, os Erlenmeyers foram colocados em agitador orbital a 30 rpm à temperatura ambiente. As plantas das populações ETRB e EKLN19 foram inoculadas com  $10^4$  ufc.mL<sup>-1</sup>, preparado de acordo com metodologia descrita anteriormente, e um grupo de 40 plantas permaneceu por 24 horas e outro grupo de 40 plantas por 48 horas em câmara úmida. A avaliação foi realizada 21 dias após a inoculação com base na escala de notas citada anteriormente.

Nesse ensaio observou-se que o meio de cultura no qual o fungo foi produzido teve efeito na virulência do inóculo (Figura 5). As maiores notas de severidade foram observadas nas plantas inoculadas com fragmento de micélio produzido em meio de batata dextrose e mantidas por 48 horas em câmara úmida. O inóculo produzido no meio caldo vegetal não foi infectivo nas plantas da população ETRB, enquanto que o inóculo produzido no meio folha de mandioca não foi infectivo em ambas as populações, independente do período de câmara úmida após a inoculação.



**Figura 5.** Nota de severidade da doença para as populações EKLN19 e ETRB de *Euphorbia heterophylla* 21 dias após a inoculação (DAI) com fragmento de micélio de *Sphaceloma poinsettiae* produzido nos meios: batata dextrose (BD), caldo de cenoura (C), caldo vegetal (CV) e caldo de folha de mandioca (M) e submetidas aos períodos de 24 e 48 horas de câmara úmida após a inoculação. Média de cinco repetições.

Baseado nesse resultado realizou-se um segundo ensaio para avaliar o crescimento micelial do fungo em meio BD. O isolado obtido de uma cultura de 10 dias formada em meio de batata dextrose agar a ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 12 horas) foi repicado para Erlenmeyers contendo 50 mL de meio, que foram colocados em shaker sob agitação constante a 150 rpm em temperatura ambiente com quatro repetições. A massa micelial foi centrifugada e pesada a cada três dias durante 18 dias. O máximo incremento foi observado entre o 9º e 12º (2,2 g) dia seguido do 12º ao 15º dia (1,13 g). Portanto, 12 dias de crescimento em meio líquido é um período suficiente para obtenção de máximo crescimento micelial do isolado RWB274 de *S. poinsettiae*.

### Efeito da temperatura na germinação das unidades propagativas dos isolados

A germinação das unidades propagativas foi avaliada, espalhando-se com auxílio da alça de Drigalski, 500 $\mu$ L de uma suspensão de 10<sup>5</sup> conídios.mL<sup>-1</sup> (*B. euphorbiae*) ou 10<sup>4</sup> ufc.mL<sup>-1</sup> (*S. poinsettiae*) em placas de Petri (cinco repetições/isolado) contendo agar-água. As unidades propagativas foram obtidas de acordo com metodologia descrita anteriormente para cada fungo. As placas foram mantidas nas temperaturas de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40°C. Após 24 horas, foi verificada a germinação de 200 esporos ou fragmentos de micélio/placa, sob microscópio óptico (aumento de 40X), considerando esporos germinados aqueles que apresentavam tubo germinativo igual ou maior que o comprimento do conídio e fragmentos viáveis quando o micélio originado apresentava comprimento igual ou maior que o fragmento original.

A germinação de conídios de *B. euphorbiae* foi verificada entre 5 e 30°C e a germinação máxima entre 20 e 30°C enquanto que para *S. poinsettiae* a germinação dos fragmentos de micélio foi observada apenas entre 20 e 30°C sendo a germinação máxima obtida a 30°C.

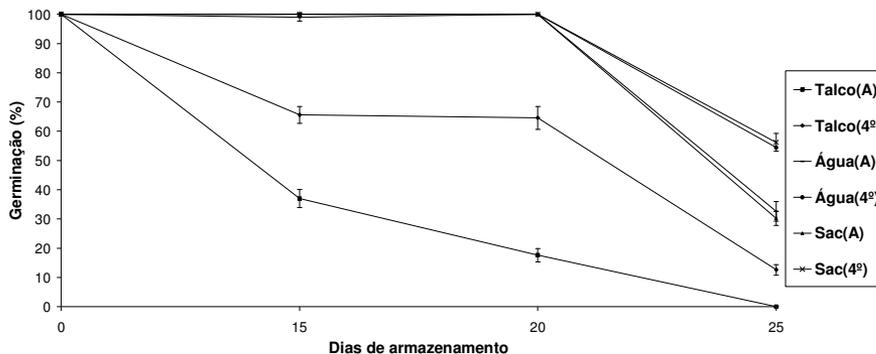
### Vida de prateleira de fragmentos de micélio de *Sphaceloma poinsettiae*

O cultivo e o preparo da unidade propagativa foram feitos de acordo com a metodologia descrita anteriormente.

A sobrevivência de fragmentos de micélio em armazenamento foi avaliada utilizando três tratamentos prévios: 1. manutenção em água destilada esterilizada (1g/10mL); 2. mistura com talco neutro (Johnson & Johnson®/ 1g micélio/3g talco) seguida de secagem

em dessecador por 24 h; 3. solução de sacarose 35% (1g/10 mL) seguido de agitação em shaker (168 rpm/temperatura ambiente) por 24 h. Metade dos frascos de cada tratamento foi mantido à temperatura ambiente e a outra metade em refrigeração a 4°C. A avaliação da viabilidade seguiu a mesma metodologia descrita anteriormente no item 6.

A viabilidade dos fragmentos caiu para 56,2% ou menos após 25 dias em todos os métodos de preservação (Figura 6). Os maiores valores de germinação foram obtidos com a combinação de preservação líquida e baixa temperatura (54,4% para sacarose e 56,2% para água destilada). No método de preservação em que se utilizou talco neutro, independente da temperatura de armazenamento, observou-se o menor percentual de germinação.



**Figura 6.** Porcentagem de germinação de fragmentos de micélio de *Sphaceloma poinsettiae* submetidos aos métodos de armazenamento em água, talco e sacarose e às temperaturas ambiente (A) e refrigeração a 4°C. Média de cinco repetições.

### Compatibilidade *in vitro* de *Bipolaris euphorbiae* com herbicidas químicos

Formulações comerciais de herbicidas químicos de diferentes mecanismos de ação e a mistura glyphosate + carfentrazone, todos comumente indicados para o controle do leiteiro foram usadas nesse ensaio (Tabela 5).

**Tabela 5.** Nome técnico, mecanismo de ação e dosagem dos herbicidas químicos utilizados nos experimentos.

Nome Técnico	Mecanismo de ação	Dosagem
Imazethapyr	inibidor da enzima ALS	106 g i.a/L
Glyphosate	inibidor da enzima EPSPs	720 g i.a/L
Fomesafen	inibidor de Prottox	250 g i.a/L
Carfentrazone	inibidor de Prottox	400 g i.a/L
Atrazine	inibidor do fotossistema II (FSII)	500 g i.a/L
Glyphosate + Carfentrazone	inibidor da enzima EPSPs + inibidor de Prottox	720 gi.a./L + 400 g i.a./L

Soluções dos herbicidas foram preparadas na dose recomendada pelo fabricante e diluídas em água destilada para obtenção de uma solução com a metade da dose recomendada. A suspensão de conídios foi obtida pela adição da solução do herbicida em placas de Petri semeadas com *B. euphorbiae* cultivado em meio BDA a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 12 horas. Uma alíquota de 500  $\mu\text{l}$  dessa suspensão foi depositada em placas contendo ágar-água (cinco repetições/produto), espalhadas com alça de Drigalski e mantidas a  $25^\circ\text{C}$  sob fotoperíodo de 12 horas. A avaliação da germinação de esporos foi feita após seis horas, examinando-se 200 esporos/placa no aumento de 40X em microscópio óptico.

A média de germinação dos conídios variou de 99,6 a 100% em todas as suspensões de herbicidas independentes da dose utilizada.

### Especificidade dos isolados

Para verificar a gama de hospedeiros dos isolados KLN05 de *B. euphorbiae* e RWB274 de *S. poinsettiae*, as plantas foram escolhidas segundo o modelo denominado centrífugo-filogenético (WAPSHERE, 1974). Foram incluídas espécies pertencentes à Subclasse Rosidae, com concentração na família Euphorbiaceae e no gênero *Euphorbia* e, adicionalmente, incluíram-se espécies economicamente importantes, oito cultivares de soja e plantas hospedeiras de fungos do gênero *Bipolaris* (Tabela 6) e *Sphaceloma* (Tabela 7). Para confirmação da virulência do inóculo utilizado foram incluídas também representantes de duas populações de *E. heterophylla*. A idade das plantas (cinco repetições/espécie) testadas variou de acordo com a espécie, mas todas apresentavam folhas em todos os estádios de desenvolvimento. O preparo do inóculo seguiu a mesma metodologia descrita anteriormente para ambos os fungos utilizando-se suspensões de  $1 \times 10^5$  conídios.mL<sup>-1</sup> (para *B. euphorbiae*) e  $1 \times 10^5$  ufc.mL<sup>-1</sup> (para *S. poinsettiae*) + Tween 20 a 0,05 % + Break thru® a 0,05 %. As avaliações foram feitas a cada cinco dias, durante 30 dias, verificando a presença ou não de sintomas nas folhas, ramos e inflorescências.

Tabela 6. Teste de especificidade de *Bipolaris euphorbiae* KLN05

Ordem	Família	Nome Científico	Subclasse Rosidae	Resultado <sup>a</sup>
Apiales	Apiaceae	<i>Daucus carota</i> L.		-
Euphorbiales	Euphorbiaceae	<i>Acalypha godseffiana</i> Masters		-
		<i>Acalypha reptans</i> Sw.		-
		<i>Acalypha wilkesiana</i> M. Arg.		-
		<i>Codiaeum variegatum</i> Blume		-
		<i>Chamaesyce hirta</i> (L.) Millsp.		-
		<i>Euphorbia cotinifolia</i> L.		-
		<i>Euphorbia heterophylla</i> :		-
		população EKLN19		+
		população ETRB		+
		<i>Euphorbia milii</i> des Moulins		-
		<i>Euphorbia pulcherrima</i> Willd. ex Klot.		-
		<i>Euphorbia tirucali</i> L.		-
		<i>Hevea brasiliensis</i> Willd. ex Adr. de Juss.) Muell. & Arg.		-
		<i>Jatropha podagrica</i> Hook		-
		<i>Manihot esculenta</i> Crantz		-
		<i>Pedilanthus tithymaloides</i> Poit.		-
		<i>Phyllanthus corcovadensis</i> Roxb.		-
		<i>Ricinus communis</i> L.		-

Continua...

Tabela 6. Continuação

Subclasse Rosidae			
Ordem	Família	Nome Científico	Resultado <sup>a</sup>
Fabales	Fabaceae	<i>Glycine max</i> (L.) Merr. <sup>c</sup>	-
		cv. UFV 19	-
		cv. UFV 16	-
		cv. UFV 16 Precoce	-
		cv. UFV 2001	-
		cv. UFV 2006	-
		cv. UFV 2007	-
		cv. UFV 2008	-
		cv. UFV 2009	-
		<i>Phaseolus vulgaris</i> L. <sup>c</sup>	-
Geraniales	Tropaeolaceae	<i>Tropaeolum majus</i> L.	-
Myrtales	Myrtaceae	<i>Eugenia uniflora</i> L.	-
Proteales	Proteaceae	<i>Grevillea banksii</i> R. Br.	-
Rhamnales	Vitaceae	<i>Vitis</i> sp.	-
Rosales	Rosaceae	<i>Rosa sinensis</i> Jacq.	-
Sapindales	Anacardiaceae	<i>Mangifera indica</i> L.	-
	Rutaceae	<i>Citrus reticulata</i> Blanco	-

Continua...

Tabela 6. Continuação

Subclasse Rosidae		Resultado <sup>a</sup>
Ordem	Família	Nome Científico
<b>Espécies salvaguardas economicamente importantes</b>		
Sub Classe Dillenidae		
Ordem	Família	Nome Científico
Malvales	Malvaceae	Gossypium sp. <sup>c</sup>
Sub Classe Commelinidae		
Ordem	Família	Nome Científico
Cyperales	Poaceae	<i>Oryza sativa</i> L. <sup>b</sup> <i>Saccharum</i> sp. <sup>c</sup> <i>Triticum aestivum</i> L. <sup>b</sup> <i>Zea mays</i> L. <sup>c</sup>

<sup>a</sup> (+) sintoma da doença observado; (-) ausência de sintoma.

<sup>b</sup> Espécies hospedeiras do gênero *Bipolaris*

<sup>c</sup> Espécies economicamente importantes que sofrem competição de *Euphorbia heterophylla*

Tabela 7: Teste de especificidade de *Sphaceloma poinsettiae* RWB274

Subclasse Rosidae			
Ordem	Família	Espécies	Resultado <sup>a</sup>
Apiales	Apiaceae	<i>Daucus carota</i> L.	-
Euphorbiales	Euphorbiaceae	<i>Acalypha godseffiana</i> Masters	-
		<i>A. reptans</i> Sw.	-
		<i>A. wilkesiana</i> M. Arg.	-
		<i>Codiaeum variegatum</i> Blume	-
		<i>Chamaesyce hirta</i> (L.) Millsp.	-
		<i>Euphorbia cotinifolia</i> L.	-
		<i>E. heterophylla</i> L.:	
		população EKLN19	+
		população ETRB	+
		<i>E. milii</i> des Moulins	-
		<i>E. pulcherrima</i> Wild. ex Klot. <sup>b</sup>	-
		<i>E. tirucali</i> L.	-
		<i>Hevea brasiliensis</i> Wild. ex Adr. de Juss.) Muell. & Arg. <sup>b</sup>	-
		<i>Jatropha podagrica</i> Hook	-
		<i>Manihot esculenta</i> Crantz <sup>b</sup>	-
		<i>Pedilanthus tithymaloides</i> Poit.	-
		<i>Phyllanthus corcovadensis</i> Roxb.	-
		<i>Ricinus communis</i> L.	-

Continua...

Tabela 7. Continuação

Subclasse Rosidae			
Ordem	Família	Espécies	Resultado <sup>a</sup>
Fabales	Fabaceae	<i>Arachis hypogaea</i> L. <sup>b</sup>	-
		<i>Canavalia ensiformis</i> (L.) DC. <sup>b</sup>	-
		<i>Desmodium uncinatum</i> (Jacq.) DC. <sup>b</sup>	-
		<i>Glycine max</i> (L.) Merr. <sup>c</sup>	-
		cv. UFV 19	-
		cv. UFV 16	-
		cv. UFV 16 Precoce	-
		cv. UFV 2001	-
		cv. UFV 2006	-
		cv. UFV 2007	-
		cv. UFV 2008	-
		cv. UFV 2009	-
		<i>Phaseolus vulgaris</i> L. <sup>b, c</sup>	-
<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp. <sup>b</sup>	-		
Geraniales	Tropaeolaceae	<i>Tropaeolum majus</i> L.	-
		<i>Eugenia uniflora</i> L.	-
Myrtales	Myrtaceae	<i>Psidium guajava</i> L. <sup>b</sup>	-
		<i>Grevillea banksii</i> R. Br.	-
Proteales	Proteaceae		
Rhamnales	Vitaceae	<i>Vitis</i> sp. <sup>b</sup>	-

Continua...

Tabela 7. Continuação

Subclasse Rosidae			
<b>Ordem</b>	<b>Família</b>	<b>Espécies</b>	<b>Resultado<sup>a</sup></b>
Rosales	Rosaceae	<i>Rosa sinensis</i> Jacq. <sup>b</sup>	-
Sapindales	Anacardiaceae	<i>Mangifera indica</i> L. <sup>b</sup>	-
	Rutaceae	<i>Citrus reticulata</i> Blanco <sup>b</sup>	-
Espécies salvaguardadas			
Subclasse Asteridae			
<b>Ordem</b>	<b>Família</b>	<b>Espécies</b>	<b>Resultado<sup>a</sup></b>
Asterales	Asteraceae	<i>Bidens pilosa</i> L. <sup>b</sup>	-
Solanales	Convolvulaceae	<i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam. <sup>b</sup>	-
Subclasse Commelinidae			
<b>Ordem</b>	<b>Família</b>	<b>Espécies</b>	<b>Resultado<sup>a</sup></b>
Cyperales	Poaceae	<i>Saccharum</i> sp. <sup>c</sup>	-
		<i>Zea mays</i> L. <sup>c</sup>	-

Continua...

Tabela 7. Continuação

Subclasse Rosidae			
Ordem	Família	Espécies	Resultado <sup>a</sup>
		Subclasse Dilleniidae	
Ordem	Família	Espécies	Resultado <sup>a</sup>
Violales	Caricaceae	<i>Carica papaya</i> L. <sup>b</sup>	-
Malvales	Malvaceae	<i>Gossypium</i> sp. <sup>c</sup>	-
Subclasse Magnoliidae			
Ordem	Família	Espécies	Resultado <sup>a</sup>
Laurales	Lauraceae	<i>Persea americana</i> Mill. <sup>b</sup>	-

<sup>a</sup> (+) sintoma da doença observado; (-) ausência de sintoma.

<sup>b</sup> Espécies hospedeiras do gênero *Sphaceloma*

<sup>c</sup> Espécies economicamente importantes que sofrem competição de *Euphorbia heterophylla*

Os isolados de *S. poinsettiae* e *B. euphorbiae* foram específicos à *E. heterophylla*. Após 35 dias de observação apenas as plantas pertencentes às duas populações de *E. heterophylla* EKLN19 e ETRB apresentaram sintomas das doenças.

### Considerações finais

O isolado selecionado de *B. euphorbiae* KLN05 foi superior ao que vinha sendo utilizado em trabalhos anteriores feitos no Paraná (TAD). A suspensão de  $10^7$  conídios de *B. euphorbiae*.mL<sup>-1</sup> foi necessária para causar 80% de mortalidade nas plantas da população EKLN19 considerada suscetível ao fungo. Entretanto, nessa mesma condição a população ETRB destacada como resistente ao fungo não foi controlada eficientemente. Embora tenha sido observada uma desfolha acentuada em plantas desta população, as hastes permaneceram saudáveis e novas folhas saudáveis eram rapidamente formadas (NECHET et al., 2006). Em termos práticos, a injúria a plantas de *E. heterophylla* pode ser suficiente para reduzir sua competitividade com a cultura, embora a busca por isolados que causem morte rápida da invasora seja sempre o objetivo das seleções de fungos como mico-herbicidas.

Outro fator a ser observado foi a alta concentração de inóculo necessária para obtenção do controle que implicaria em maior custo para a produção massal que pode ser um obstáculo para viabilizar o desenvolvimento de um produto comercial.

Como aspectos favoráveis observados para *B. euphorbiae* durante este trabalho destacam-se a especificidade à *E. heterophylla* e a não inibição da germinação dos conídios pela mistura com herbicidas, o que possibilitaria o uso integrado deste fungo com herbicidas para aumentar a eficiência de controle da invasora, aumentar o número de espécies a serem controladas e reduzir a dosagem

de herbicida a ser utilizado (HOAGLAND, 1996). Estudos complementares *in vivo* com o uso da combinação de herbicida+fungo são necessários para se determinar se há efeito sinérgico ou não desses agroquímicos associados ao agente de controle biológico.

O isolado ideal de *B. euphorbiae* será aquele capaz de causar sérios danos na população ETRB. Pelos resultados obtidos neste trabalho em que se utilizaram vários isolados e pelos trabalhos anteriores conduzidos no Paraná, essa população parece ser resistente a esta espécie de fungo. A busca por novos isolados ou novas abordagens, como a mistura de isolados, ainda é necessária para se desenvolver um mico-herbicida à base do fungo *B. euphorbiae*.

Com relação à *S. poinsettiae*, embora a verrugose causada pelo fungo em *E. heterophylla* em condições naturais seja uma doença muito impactante, não se obteve resultado comparável nas condições controladas utilizadas nos experimentos. Talvez a ausência de esporulação dos isolados *in vitro* esteja ligada a esta virulência aparentemente diminuída do fungo. Os fragmentos de micélio de *S. poinsettiae* foram usados como inóculo em substituição aos conídios e sua virulência foi maior quando produzidos em meio BD. Entretanto, a viabilidade desses propágulos durante o armazenamento, tanto em temperatura ambiente como a 4°C declinou rapidamente. Após 25 dias o maior valor de UFC viáveis foi de apenas 60% quando o propágulo foi mantido em suspensão com água ou solução de sacarose 35% a 4°C (NECHET et al., 2004).

A manutenção de viabilidade elevada do inóculo por um período de no mínimo seis meses é geralmente considerado condição fundamental para o sucesso de um mico-herbicida (GREEN et al., 1997). A busca por métodos de preservação que mantenham a viabilidade do micélio de *S. poinsettiae* por mais tempo seria necessária para o prosseguimento de seu desenvolvimento como mico-herbicida.

Esta foi a primeira vez que se avaliou o potencial de um fungo do gênero *Sphaceloma* como agente de controle biológico de planta invasora. Trata-se de uma espécie que se demonstrou ser específica para o leiteiro. Além de *E. heterophylla* há diversas plantas invasoras importantes que apresentam ataques severos de fungos deste gênero (NECHET; BARRETO, 2001). As informações geradas neste trabalho podem ajudar nos trabalhos de busca por outros agentes de biocontrole da família *Elsinoaceae*, principalmente por indicar algumas dificuldades práticas encontradas quando se trabalha com o gênero *Sphaceloma*.

Uma última abordagem a ser considerada futuramente é a mistura de diferentes espécies fúngicas, quando uma única espécie não é capaz de controlar eficientemente a espécie-alvo (CHANDRA-MOHAN; CHARUDATTAN, 1996). Considerado o tipo de sintoma que *S. poinsettiae* causa (verrugas e estrangulamento do pecíolo) e a severa desfolha observada nas plantas inoculadas com *B. euphorbiae*, a associação dos dois isolados poderia resultar em um controle eficiente das populações de *E. heterophylla*.

## Referências

- AULD, B. A. Bioherbicides. In: JULIEN, M.; WHITE, G. (Ed.). **Biological control of weeds: theory and practical application**. Canberra: ACIAR, 1997. p. 129-134, 1997. (ACIAR monograph series, 49).
- AZANIA, C. A. M.; AZANIA, A. A. P. M.; PIZZO, I. V.; SCHIAVETTO, A. R.; ZERA, F. S.; MARCARI, M. A.; SANTOS, J. L. Manejo químico de convolvulaceae e euphorbiaceae em cana-de-açúcar em período de estiagem. **Planta Daninha**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 4, p. 841-848, 2009.
- BARRETO, R. W. ; EVANS, H. Fungal pathogens of *Euphorbia heterophylla* and *E. hirta* in Brazil and their potential as weed biocontrol agents. **Mycopathologia**, Den Haag, v. 141, n. 1, p. 21-36, 1988.

CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: J. Wiley, 1990. 532 p.

CARVALHO, L. B.; BIANCO, S.; GUZZO, C. D. Interferência de *Euphorbia heterophylla* no crescimento e acúmulo de macronutrientes da soja. **Planta Daninha**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 1, p. 33-39, 2010.

CHANDRAMOHAN, S.; CHARUDATTAN, R. Multiple-pathogen approach strategy for bioherbicidal control of several weeds. **WSSA Abstracts**, [S.l.], v. 36, p. 49, 1996.

CHARUDATTAN, R. Biological Control of weeds by means of plant pathogens: Significance for integrated weed management in modern agro-ecology. **BioControl**, Dordrecht, v. 46, n. 2, p. 229-260, 2001.

COSTA, O. M. M. Morfologia e desenvolvimento de *Euphorbia heterophylla* L. **Agronomia Sulriograndense**, Porto Alegre, v. 18, n. 2, p. 59-66, 1982.

COSTA, O. M. M. Ocorrência de regeneração adventícia na leiteira (*Euphorbia heterophylla* L.). **Agronomia Sulriograndense**, Porto Alegre, v. 23, n. 2, p. 157-165, 1987.

DHINGRA, O. D.; SINCLAIR, J. B. **Basic plant pathology methods**. New York: CRC Press, 1995. 434 p.

DUARTE, A. P.; DEUBER, R. de. Levantamento de plantas infestantes em lavouras de milho "safrinha" no estado de São Paulo. **Planta Daninha**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 2, p. 297-307, 1999.

HOAGLAND, R. E. Chemical interactions with bioherbicides to improve efficacy. **Weed Technology**, Champaign v. 10, n. 3, p. 651-674, 1996.

GAZZIERO, D. L. P.; BRIGHENTI, A. M.; MACIEL, C. D. G.; CHRISTOFOLLETI, P. J.; ADEGAS, F. S.; VOLL, E. Resistência de amendoim-bravo aos herbicidas inibidores da enzima ALS. **Planta Daninha**, Rio de Janeiro, v. 16, n. 2, p. 117-125, 1998.

GELMINI, G. A.; VICTÓRIA FILHO, R.; NOVO, M. C. S. S.; ADORYAN, M. L. Resistência de biótipos de *Euphorbia heterophylla* L. aos herbicidas inibidores da enzima ALS utilizados na cultura da soja. **Bragantia**, Campinas, v. 60, n. 2, p. 93-99, 2001.

GREEN, S.; STEWART-WADE, S. M.; BOLAND, G. J.; TESHLE, M. P.; LIU, S. H. Formulating microorganism for biological control of weeds. In: BOLAND, G. J. (Ed.). **Plant Microbe interactions and biological control**. New York: CRC Press, 1997. p. 249-281.

KISSMANN, K. G.; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**: tomo II: plantas dicotiledôneas. São Paulo: Basf Brasileira, 1993. 798 p.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil**: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2000. 608 p.

MARTINS, D.; VELINI, E. D.; MARTINS, C. C.; SOUZA, L. S. Emergência em campos de dicotiledôneas infestantes em solo coberto com palha de cana-de-açúcar. **Planta Daninha**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 1, p. 151-161, 1999.

McKINEY, H. H. Influence of soil temperature and moisture on infection of heat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, Washington, DC, v. 26, n. 9, p. 195-217, 1923.

NECHET, K. L.; BARRETO, R. W. Verrugoses associadas a algumas plantas daninhas no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 26, p. 365, 2001. Suplemento. Edição dos Resumos do XXXIV Congresso Brasileiro de Fitopatologia, São Pedro, ago. 2001.

NECHET, K. L.; BARRETO, R. W.; MIZUBUTI, E. S. G. *Sphaceloma poinsettiae* as a potential biological control agent for wild poinsettia (*Euphorbia heterophylla*). **Biological Control**, Orlando, v. 30, n. 3, p. 556-565, 2004.

NECHET, K. L.; BARRETO, R. W.; MIZUBUTI, E. S. G. *Bipolaris euphorbiae* as a biological control agent for wild poinsettia (*Euphorbia heterophylla*): host-specificity and variability in pathogen and host populations. **BioControl**, Dordrecht, v. 51, n. 2, p. 259-275, 2006.

PARSONS, W. T.; CUTHBERTSON, E. G. **Noxious weeds of Australia**. Melbourne, Sydney: Inkata Press, 1992.

PEREIRA, J. M.; BARRETO, R. W.; ELLISON, C. A.; MAFFIA, L. A. *Corynespora cassiicola* f. sp. *lantanae*: a potential biocontrol agent for *Lantana camara* from Brazil. **Biological Control**, Orlando, v. 26, n. 1, p. 21-31, 2003.

TREZZI, M. M.; VIDAL, R. A.; KRUSE, N. D.; NUNES, A. L. Bioensaios para identificação de biótipos de *Euphorbia heterophylla* com resistência múltipla a inibidores da ALS e da Protox. **Planta Daninha**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 3, p. 563-571, 2006.

VIDAL, R. A.; FLECK, N. G. Three weed species with confirmed resistance to herbicides in Brazil. In: MEETING OF THE WEED SCIENCE SOCIETY OF AMERICA, 37., 1997, Orlando. **Abstracts**... Orlando: WSSA, 1997. p. 100.

VIDAL, R. A.; TREZZI, M. M.; DE PRADO, R.; SANTAELLA, J. P. R.; AIUB, M. V. Glyphosate resistant biotypes of wild poinsettia (*Euphorbia heterophylla* L.) and its risk analysis on glyphosate-tolerant soybeans. **Journal of Food Agriculture & Environment**, Helsinki, v. 5, n. 2, p. 265-269, 2007.

VOLL, E.; GAZZIERO, D. L. P.; BRIGHENTI, A. A. M.; ADEGAS, F. S. Competição relativa de espécies de plantas daninhas com dois cultivares de soja. **Planta Daninha**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 1, p. 17-24, 2002.

WALKER, H. L. **Production of spores for field studies**. New Orleans: U.S. Dept. of Agriculture, Agricultural Research Southern Region, 1980. 5 p. (Advances in Agricultural Technology, v. 12).

WAPSHERE, A. J. A strategy for evaluating the safety of organisms for biological weed control. **Annals of Applied Biology**, Wellesbourne, v. 77, n. 2, p. 201-211, 1974.

YORINORI, J. T. Biological control of milkweed (*Euphorbia heterophylla*) with pathogenic fungi. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BIOLOGICAL CONTROL OF WEEDS, 6., 1985, Vancouver. **Proceedings**... Vancouver: Vancouver Agriculture Canada, 1985. p. 677-681.

YORINORI, J. T.; GAZZIERO, D. L. P. Control of milkweed (*Euphorbia heterophylla*) with *Helminthosporium* sp. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BIOLOGICAL CONTROL OF WEEDS, 7., 1989, Rome. **Proceedings**... Rome: Istituto Sperimentale per la Patologia Vegetale, 1989. p. 571-576.

## Controle Biológico de Fitonematoides com Fungos Nematófagos

Pedro L. M. Soares, Jaime M. dos Santos, Rafael B. de Carvalho; Bruno F. F. Barbosa, Paulo R. P. Martinelli e Vanessa dos S. Paes

---

### Introdução

Os nematoides sempre fizeram parte dos ecossistemas existentes no planeta desde o início dos tempos, inclusive os nematoides que se alimentam de plantas, genericamente referidos como fitonematoides. O conhecimento desses organismos causando doenças nos humanos e outros animais remonta à antiguidade. Contudo, a humanidade tomou conhecimento da existência dos fitonematoides em 1743 quando o padre Turbevil Needhan, na Inglaterra, observou que uma doença chamada de carvão das sementes do trigo era causada por um organismo ao qual ele se referiu como “enguias ou serpentes”. Com efeito, algum tempo depois se constatou que tratava-se de *Anguina tritici* Scopoli, o nematoide das sementes do trigo. A interpretação errônea de Needhan foi consequência do fato de que não se tinha conhecimento, até então, da existência dos fitonematoides.

Outro capítulo importante da história da Nematologia deu-se no Brasil Império, na então Província do Rio de Janeiro. Foi quando Goeldi, por incumbência do Imperador D. Pedro II concluiu em 1887 o famoso “Relatório sobre a moléstia do cafeeiro na Província do Rio de Janeiro”. O foco desse documento histórico era a causa de

uma doença até então desconhecida que vinha dizimando os cafezais da então Província. Em verdade, nove anos antes, um pesquisador da Escola Politécnica de Paris, de passagem pelo Rio de Janeiro foi levado à localidade de Canta Galo para inspecionar um cafezal com sintomas da doença. Voltando à França, ele publicou uma nota de quatro páginas nos Cadernos da Academia de Ciências de Paris, dando conta de que se tratava de um nematoide, mas não o nomeou. Coube a Goeldi, nove anos depois descrevê-lo e nomeá-lo *Meloidogyne exigua* Goeldi, tratava-se de um gênero novo e sua espécie tipo.

Atualmente, os nematoides desse grupo são referidos como os nematoides de galha e o gênero contém em torno de 100 espécies. Praticamente todas as culturas em todos os países têm, pelo menos, uma espécie desses nematoides como praga. Mais de 2.000 espécies de plantas já foram catalogadas como suas hospedeiras. Esses e outros fitonematoides causam bilhões de reais em perdas todos os anos e, em muitos casos, forçaram a migração de culturas de uma região para outra em função das dificuldades de controle dessas pragas, tal como o cafeeiro no Brasil.

O hábito polífago, a ampla distribuição e a variabilidade intraespecífica dos nematoides dificultam a utilização de métodos eficientes de manejo, como a resistência varietal e a rotação de culturas, entre outros. Com o passar dos anos, a busca pela sustentabilidade e as pesquisas demonstraram que o controle químico isoladamente não proporciona os resultados requeridos para o controle dos nematoides. Então, os esforços foram focados na busca por outras tecnologias e táticas de controle que combinadas possam trazer resultados satisfatórios no campo. Com a finalidade de diminuir as perdas causadas pelos nematoides o controle biológico é uma alternativa eficiente, viável (tanto pelo custo como pela aplicabilidade), tanto que, no presente, tornou-se alvo das grandes corporações nacionais e multinacionais; representa um menor risco para o homem, animais

e o meio ambiente; é uma forma de controle mais adequada para os diferentes sistemas de cultivo, não causa desequilíbrio da biota do solo, com conseqüente ressurgimento do problema com maior severidade; potencialmente, pode transformar um solo conducente em supressivo e é uma medida de controle inserida no contexto do manejo integrado de nematoides e da agricultura sustentável.

O controle biológico consiste na redução das populações dos nematoides ou de sua capacidade de se alimentar e causar danos às plantas, pela ação de um ou mais organismos vivos que ocorre naturalmente no solo ou através da manipulação do ambiente, incluindo a introdução de organismos antagonistas (BAKER; COOK, 1974; STIRLING, 2011). Baseia-se na relação antagônica entre microrganismos e fitopatógenos, tais como os nematoides, podendo ser caracterizado por diferentes modos de ação: antibiose, predação, indução de resistência da planta hospedeira, micoparasitismo, produção de enzimas e toxinas, colonização sistêmica da planta hospedeira, competição por nutrientes e sítios de colonização e liberação de enzimas hidrolíticas que atuam na degradação da parede celular (BETTIOL, 2009; MELO; AZEVEDO, 1998). O seu sucesso depende das propriedades antagonistas e dos mecanismos de ação do parasito (BETTIOL, 2009).

### **Um breve histórico do controle biológico de nematoides com fungos nematófagos**

Pesquisas com fungos nematófagos tiveram início há mais de 130 anos, com observações feitas por Lodhe em 1874 com o fungo endoparasita *Harposporium anguillulae* Lohde, conforme menção de Novaretti (1986). O aumento do interesse pelo controle biológico de nematoides ocorreu após a demonstração de que algumas espécies de fungos endoparasitos impediam o aumento da população

do nematoide *Heterodera avenae* Wollenweber e reduzem a população de nematoides causadores de galhas (JATALA et al., 1981; KERRY et al., 1982).

Mais de 200 diferentes organismos são considerados inimigos naturais dos nematoides, como fungos, bactérias, nematoides predadores, ácaros, entre outros (JANSSON; POINAR JUNIOR, 1988; KERRY, 1990). Cerca de 75% desses organismos antagonistas foram identificados como possíveis agentes de controle biológico dos nematoides, dentre os quais os fungos ocupam posição de destaque e são encontrados normalmente no solo. Estes são inofensivos às culturas e ao homem, parasitam ovos, predam juvenis, adultos ou cistos, ou ainda produzem substâncias tóxicas aos nematoides (GUNDY, 1985 citado por SANTOS, 1991; JATALA, 1986; STIRLING, 2011). Uma grande variedade e diversidade de gêneros e espécies de fungos ocorrem naturalmente no solo e são capazes de se alimentar de nematoides, sendo conhecidos como fungos nematófagos, constituindo o grupo de inimigos naturais mais estudado. São conhecidos cerca de 70 gêneros e 160 espécies desses organismos (FERRAZ et al., 2001; QADRI, 1989).

No Brasil, os primeiros relatos de trabalhos relativos ao controle biológico de nematoides foram feitos por Alcântara e Azevedo (1981), que isolaram alguns fungos a partir de nematoides infectados. Atualmente, vários pesquisadores apontam os fungos nematófagos predadores e os parasitas de ovos como de maior potencial como agentes de controle biológico de nematoides.

Os fungos predadores possuem rápido crescimento e desenvolvimento micelial intenso que são dois fatores fundamentais para se disseminar e sobreviver no ambiente natural (DACKMAN et al., 1987). Os fungos nematófagos predadores destacam-se pela facilidade de se estabelecerem no solo, pelas suas habilidades saprofitas, além da facilidade de crescimento *in vitro*, despertando

com isso, o interesse de vários pesquisadores no mundo (GRAY, 1988; NORDBRING-HERTZ et al., 2011). Os principais gêneros de fungos predadores conhecidos são: *Arthrobotrys* Corda, *Dactylaria* Saccardo, *Dactylella* Grove e *Monacrosporium* Oudemans, conforme menção de Mankau (1980).

Além dos predadores existem aqueles que têm a capacidade de parasitar os ovos, e portanto, impedem que os nematoides causem qualquer dano à planta. Do ponto de vista de controle, estão entre os mais eficientes e utilizados, principalmente, para as espécies de nematoides que produzem uma grande quantidade de ovos. Os ovos servem, também, como estruturas de resistência dos nematoides, protegendo-os das condições adversas do ambiente e são praticamente menos atingíveis do que outros estádios de desenvolvimento no tocante a qualquer outra forma de controle. Outras vantagens são a formação intensa de micélio, o que lhes confere rápida disseminação no solo, e também por serem saprófitas facultativos indicando que na ausência de seu hospedeiro principal poderão ainda sobreviver no ambiente, colonizando a matéria orgânica. Apesar de um expressivo número de fungos parasitas de ovos serem conhecidos, apenas *Purpureocillium lilacinum*(Thom.) Samson (syn. *Paecilomyces lilacinus*) e *Pochonia chlamydosporia* Zare, Gams e Evans anteriormente nomeado de *Verticillium chlamydosporium* Goddard têm sido exaustivamente estudados por diversos pesquisadores, devido a sua comprovada eficácia (MONFORT et al., 2005; SIDDIQUI; MAHMOOD, 1995).

Por se tratarem de grupos distintos, os predadores de formas ativas dos nematoides e os parasitas de ovos, têm grande potencial de serem utilizados em conjunto e em consequência trazer melhores resultados de controle. Recentemente vários pesquisadores têm apontado o uso de uma mistura de fungos predadores e parasitas de ovos para o controle de nematoides (BARBOSA et al., 2011; BERNARDO, 2002; CORBANI, 2002; MAIA, 2000; MARTINELLI,

2008; MARTINELLI et al., 2012; SOARES, 2006, 2010). Dessa forma, as chances de obtenção de um produto eficiente aumentam por atingir um maior número de estádios de desenvolvimento do nematoide, ou seja ovos e estádios móveis e sedentários, dependendo do nematoide em questão.

### **Formas de ação dos fungos nematófagos**

Os fungos antagonistas de nematoides podem ser divididos em dois principais grupos: fungos nematófagos, que usam os nematoides como fonte de nutrientes e os fungos que causam efeito adverso aos nematoides sem utilizá-los como fonte nutricional. Alguns fungos nematófagos são parasitas obrigatórios, outros são parasitas facultativos e outros possuem características intermediárias entre os dois grupos. Os fungos nematófagos ainda podem ser divididos por aqueles que formam intenso crescimento de hifas como os fungos predadores e parasitas de ovos de nematoides e ainda aqueles que são predominantemente endofíticos. De acordo com a forma de ação, os fungos nematófagos podem ser classificados em ectoparasitos ou predadores, endoparasitos, oportunistas ou ovicidas e aqueles que produzem metabólitos tóxicos aos nematoides (JANSSON et al., 1997; MORGAN-JONES; RODRIGUEZ-KÁBANA, 1987; VIANE et al., 2006).

### **Fungos predadores**

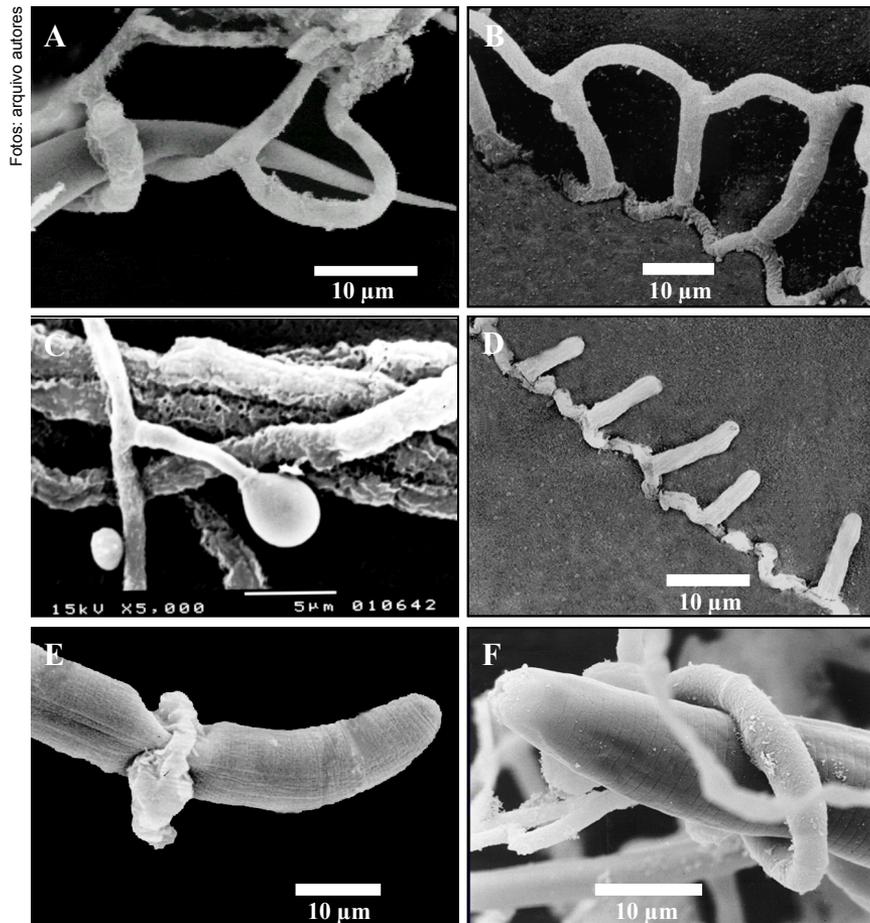
Os fungos nematófagos predadores podem ser definidos como aqueles que capturam os nematoides, penetram sua cutícula através de hifas com o objetivo de colonizar e consumir o conteúdo de seu corpo, provocando a morte do nematoide. Estes antagonistas constituem um dos grupos mais estudados e promissores agentes

de controle biológico de nematoides. Possuem rápido crescimento e intenso desenvolvimento micelial que são atributos fundamentais para se disseminarem e sobreviverem no ambiente natural (DACKMAN et al., 1987).

Esses fungos produzem estruturas especializadas na captura dos nematoides, ao longo das hifas, genericamente referidas como armadilhas as quais podem ser adesivas ou não (NORDBRING-HERTZ et al., 2011). Essas estruturas podem ser formadas espontaneamente (BLACKBURN; HAYES, 1966) ou serem produzidas em resposta a estímulos diversos, tais como substâncias liberadas no meio pelos nematoides (NORDBRING-HERTZ et al., 2011), escassez de água e/ou nutrientes (BALAN; GERBER, 1972), motilidade (JANSSON; NORDBRING-HERTZ, 1980) e o chamado ritmo endógeno, onde as hifas vegetativas, ao crescerem, são ritmicamente predispostas para produção dessas armadilhas (LÝSEK; NORDBRING-HERTZ, 1981; NORDBRING-HERTZ et al., 2011). Em solos com maior teor de matéria orgânica, Gray (1985) observou que as armadilhas formadas espontaneamente foram muito mais numerosas do que aquelas formadas não espontaneamente. Essa observação sugere que o fungo nematófago que tem a habilidade de formar armadilhas, espontaneamente, pode oferecer uma vantagem competitiva sobre outro fungo cujas armadilhas não são formadas espontaneamente.

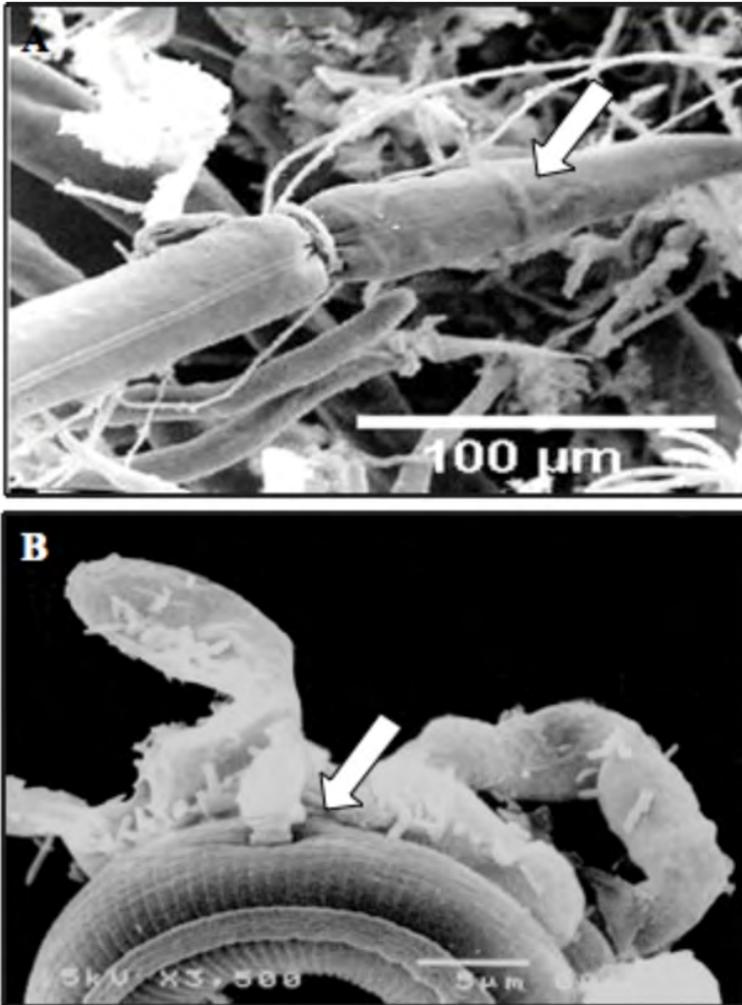
São conhecidos sete tipos de armadilhas produzidas por fungos predadores: redes adesivas tridimensionais (Figura 1A), redes adesivas bidimensionais (Figura 1B), nódulos adesivos (Figura 1C), ramos adesivos (Figura 1D), anéis constritores constituídos por três células que se dilatam e estrangulam o nematoide (Figura 1E), anéis não constritores, cujas células que os formam não se dilatam (Figura 1F) e hifas adesivas não modificadas, as quais aderem-se ao corpo dos nematoides (não ilustradas). Além desses tipos de armadilhas, foram ilustradas, pela primeira vez, as ocorrências de

anel constritor atípico (Figura 2A), não constituído por três células que se dilatam quando o nematoide penetra no anel, conforme ilustrado na Figura 1E, e a penetração direta do fungo pela cutícula do nematoide, envolvendo ação mecânica (pressão) conforme ilustrada na Figura 2B.



**Figura 1.** Eletromicrografias de varredura de alguns tipos de armadilhas especializadas na captura de nematoides produzidas por fungos nematófagos predadores. A) Rede tridimensional. B) Rede bidimensional. C) Nódulo adesivo. D) Ramos adesivos. E) Anel constritor. F) Anel não constritor.

Fotos: arquivo autores



**Figura 2.** Eletromicrografias de varredura de nematoides capturados e/ou sofrendo a ação de fungos nematófagos que produzem estruturas de captura atípicas. A) Anel constritor atípico não constituído por três células dilatadas e infecção já consolidada conforme hifas em desenvolvimento no interior do corpo do nematoide (seta). B) Penetração direta do fungo pela cutícula do nematoide (seta) envolvendo ação mecânica.

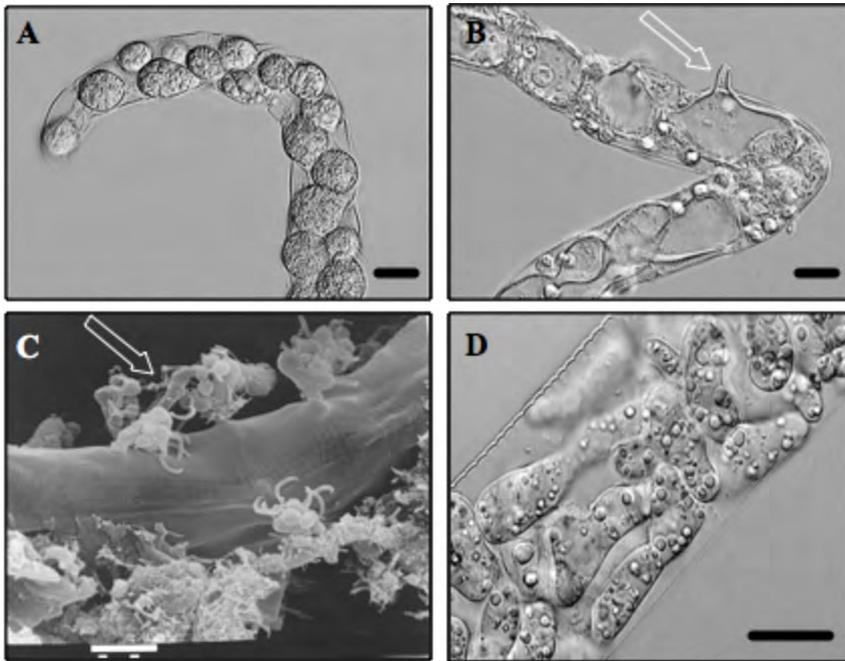
### Fungos endoparasitos

Os fungos nematófagos endoparasitos são parasitos obrigatórios de nematoides, possuem fase saprofítica limitada e geralmente

passam a parte vegetativa do ciclo de vida dentro do hospedeiro (Figuras 3A e 3B). A partir da digestão do conteúdo do corpo do hospedeiro, os conidióforos são formados do lado de fora da cutícula e suportam numerosos conídios (BARRON, 1977).

Somente após a maturação desses conídios ocorre infecção de outros nematoides. Os nematoides também são infectados após a adesão dos conídios à cutícula, ou após eles terem sido ingeridos (BARRON, 1977). Porém, nematoides parasitas de plantas são incapazes de ingerir estes conídios, em função de anatomia da região anterior do esôfago (SIDDIQUI; MAHMOOD, 1996).

O fungo nematófago endoparasito *Drechmeria coniospora* Gams e Jansson infecta os nematoides através do conídio maduro e livre (BARRON, 1977) que adere à cutícula por meio de uma substância adesiva (JANSSON; NORDBRING-HERTZ, 1983, 1984; NORDBRING-HERTZ et al., 2011). Estudos prévios da infecção do nematoide de vida livre *Panagrellus redivivus* Goodey, utilizando microscópios óptico composto e eletrônico de varredura, evidenciaram que a adesão do conídio ocorre preferencialmente nas regiões anteriores (fêmeas, machos e juvenis) e posterior (somente dos machos) próximo aos órgãos sensoriais (JANSSON; NORDBRING-HERTZ, 1983). A penetração da cutícula pode ser o resultado simultâneo do enfraquecimento através da ação enzimática e aplicação da força mecânica (DIJKSTERHUIS et al., 1990), conforme ilustrado na Figura 2B. Subsequentemente um apressório é formado e é um pré-requisito para penetração na cutícula do nematoide (DIJKSTERHUIS et al., 1990). Após a penetração o corpo do nematoide é colonizado por hifas (Figura 3D). A morfologia celular da hifa nesse estágio de infecção é caracterizada pela presença de numerosas gotas de lipídeo muitas vezes associadas a pequenos grânulos. Dentro de 40-48 horas, conidióforos são formados na parte externa do cadáver do nematoide (Figura 3C) sobre os quais são formados numerosos conídios.



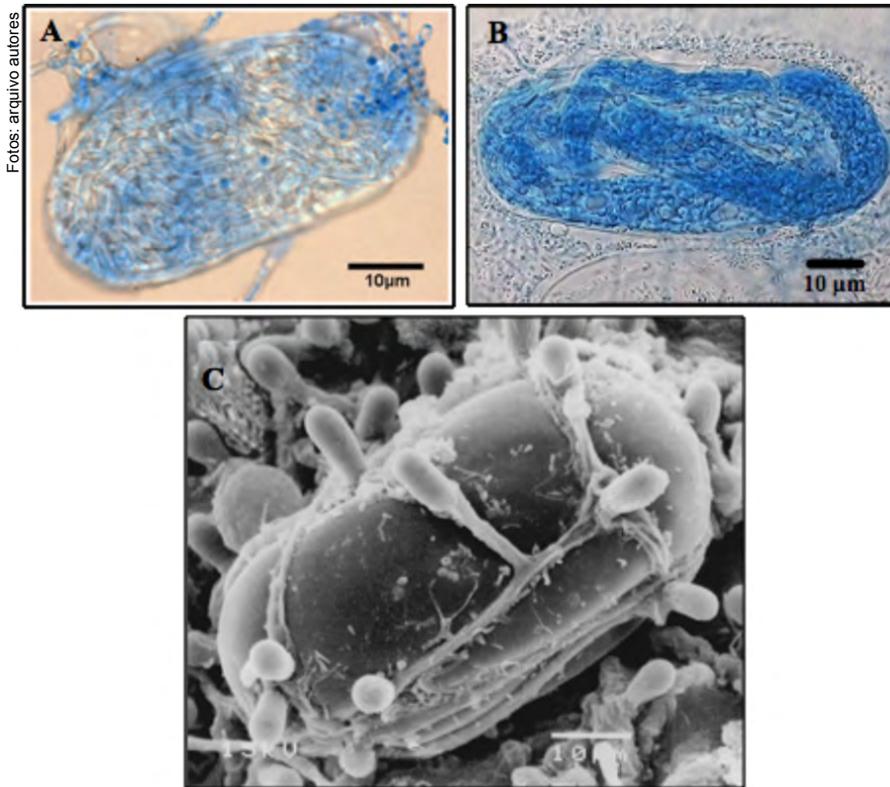
**Figura 3.** Fungos endoparasitos parasitando nematoides. A) Fotomicrografia de zoosporângios no interior do corpo do nematoide. B) Fotomicrografia do tubo de evacuação para liberação dos zoósporos (seta). C) Eletromicrografia de varredura de fiálides de *Harposporium sp.* formadas no exterior do corpo do nematoide. D) Fotomicrografia de parte do corpo de um macho de *Heterodera glycines* totalmente colonizado por um endoparasito não identificado (barras das escalas = 10µm).

### Fungos ovicidas

Os fungos nematófagos oportunistas ou ovicidas estão entre os mais promissores para o controle biológico de fitonematoides. Como os fungos predadores, esses destacam-se pela facilidade de se estabelecerem no solo, pelas suas habilidades saprofíticas, além da facilidade de crescimento *in vitro*. Também, exibem acentuado crescimento na rizosfera. Os cistos e ovos dos nematoides liberados no solo são vulneráveis à deterioração e colonização por diferentes agentes, despertando, com isso, o interesse de vários pesquisadores (SOARES, 2006).

Os fungos ovicidas consomem todo o conteúdo dos ovos. Ao estabelecer um contato com o ovo as hifas fixam-se na parede externa e produzem quitinase, rompendo o complexo quitina-proteína (JATALA, 1986), possibilitando a penetração e colonização de todo o conteúdo interno (Figuras 4A e 4B). Uma vez em contato com cistos ou massa de ovos, esses fungos crescem rapidamente e, em geral, parasitam todos os ovos.

Às vezes, fungos predadores também colonizam ovos de nematoides externamente. Suas hifas podem envolvê-los, inclusive exercendo pressão sobre eles (Figura 4C). Como esses fungos não produzem quitinase, não ocorre a penetração. Entretanto, havendo a eclosão do juvenil de segundo estágio, esse será imediatamente capturado. Os nematoides de cisto e os de galha são mais vulneráveis à ação desses fungos, uma vez que depositam os ovos em aglomerados, quer nos cistos quer em massas externas às raízes, facilitando a colonização de todos eles.



**Figura 4.** Ovos de nematoides colonizados por fungos nematófagos . A e B) Fotomicrografia de um ovo em estágio de desenvolvimento de embriogênese e juvenil em estágio de desenvolvimento, respectivamente, parasitados por um fungo parasito de ovos (*Paecilomyces lilacinus*). C) Eletromicrografia de varredura de um ovo colonizado externamente por um fungo predador (*Monacrosporium robustum*).

### Fungos produtores de metabólitos tóxicos

Vários fungos são capazes de produzir metabólitos tóxicos a nematoides vermiformes e fêmeas sedentárias, como em *Meloidogyne* spp. e *Heterodera* spp. ou de inibir a eclosão dos nematoides. Essas substâncias podem ser eficazes contra mais de um estágio de desenvolvimento do nematoide ou serem específicas a determinado estágio, como constatado por Costa et al. (2001), em que filtrados de *P. lilacinum*, *Fusarium moniliforme*, *F. oxysporum* foram capazes

de provocar alta mortalidade e inibição da eclosão de *M. incognita*, enquanto os filtrados de *F. solani*, *Aspergillus flavus*, *Cylindrocarpon magnusianum* e *Mortierella* sp. induziram inibição da eclosão. Existem poucos estudos sobre a caracterização das substâncias nematicidas produzidas por certos fungos (FERREIRA et al., 2008), mesmo considerando as principais espécies desses grupo que incluem os gêneros: *Aspergillus*, *Pleurotus*, *Penicillium*, *Trichoderma* e *Myrothecium*.

Este grupo de fungos produtores de metabólitos tóxicos ainda precisa ser melhor estudado para que sejam utilizados como agentes de biocontrole. Contudo, em 1998 a Abbott Laboratories introduziu no mercado um nematicida biológico derivado do cultivo de *Myrothecium verrucaria* (Alb. e Schwein.) Ditmar em meio líquido. O produto recebeu o nome comercial DiTera e foi introduzido no mercado norte-americano e em outros países. Em experimento a campo, esse produto controlou várias espécies de nematoides de importância econômica, incluindo nematoides de galha (*Meloidogyne* spp.), nematoides de cisto (*Heterodera/Globodera* spp.), nematoides das lesões radiculares (*Pratylenchus* spp.), *Trichodorus* spp., *Belonolaimus* spp., o nematoide cavernícola (*Radopholus similis* (Cobb) Thorne, e vários outros associados a diferentes culturas (WARRIOR et al., 1998).

### **Desenvolvimento de bionematicidas**

Considerando que existe grande variabilidade entre isolados de fungos nematófagos da mesma espécie é recomendado que se obtenha isolados de amostras de solo de diferentes regiões para aumentar as chances de obter um isolado efetivo. Os ensaios devem ser iniciados em casa-de-vegetação com o intuito de selecionar isolados capazes de exercer redução da população dos nematoides nas raízes e solo ou o número de galhas, no caso de *Meloidogyne*

spp. É interessante que os isolados mais promissores sejam avaliados quanto a outras características, como exemplo, a produção de clamidósporos, capacidade de colonização radicular, antagonismo à fungos fitopatogênicos como no caso de *P. chlamydosporia* (FERRAZ et al., 2010; MONFORT et al., 2005).

O antagonista deve ter a habilidade de se estabelecer na rizosfera das plantas e de competir com a microbiota nativa. Esse atributo é decorrente de sua capacidade de crescer em condições de escassez de nematoide, produção de estruturas de resistência, a exemplo dos clamidósporos, como estratégia de sobrevivência em condições desfavoráveis, e de uma eventual habilidade saprofítica.

O modo de ação é um outro aspecto importante e que pode determinar a eficiência do fungo nematófago como agente de controle de nematoides. Os fungos predadores produzem armadilhas e são mais eficazes para predação de nematoides de hábito ectoparasita ou endoparasita migrador, como *Pratylenchus* spp. Os nematoides endoparasitas sedentários passam um período muito pequeno de seu ciclo de vida no solo, como *Meloidogyne* spp. e *Heterodera* spp., e são vulneráveis aos fungos predadores apenas na fase juvenil em segundo estágio de desenvolvimento, quando sai do ovo e entra na raiz; enquanto que os fungos parasitas de ovos podem eliminar uma grande quantidade de nematoides na massa de ovos e no interior dos cistos. Nesse contexto, a utilização de fungos parasitas de ovos, concomitante com os predadores em produtos de controle biológico pode elevar sua eficiência, por ampliar o espectro de ação do produto a um maior número de estágios de desenvolvimento do nematoide (BARBOSA et al., 2011; BERNARDO, 2002; CORBANI, 2002; MARTINELLI, 2008; MARTINELLI et al., 2012 ; SOARES, 2006, 2010).

A capacidade de adaptação do antagonista a diferentes condições de solo e clima traz vantagens ao bionemático, além do reque-

rimento nutricional. Esse conhecimento possibilita que sejam adicionados coadjuvantes para melhor desempenho no campo, como materiais orgânicos específicos que promovam o desenvolvimento desses no solo (FERRAZ et al., 2010).

Os fungos podem ser veiculados em grãos colonizados por conterem nutrientes que possibilitam rápida colonização. Além disso, podem ser aplicados via irrigação na forma de suspensão de conídios ou pós de clamidósporos (FERRAZ et al., 2010). A formulação dos fungos deve ainda ter um custo baixo por ser um produto destinado a um mercado altamente competitivo. Dessa forma, o agente de controle não deve requerer meios complexos ou equipamentos sofisticados para sua aplicação.

Existe ainda um vasto campo de pesquisa para o desenvolvimento de bionematicidas, que deve ser levado em consideração: aspectos da ecologia, epidemiologia, estabilidade da formulação, sobrevivência do antagonista no campo, estudo toxicológico animal e humano, tecnologia de aplicação, custo, sua relação com outras medidas de controle, entre outros.

### **Potencial dos fungos nematófagos no controle biológico de fitonematoides**

Um conjunto de pesquisas desenvolvidas no Laboratório de Nematologia do Departamento de Fitossanidade da UNESP/FCAV (BARBOSA et al., 2011; BERNARDO, 2002; CORBANI, 2002; MAIA, 2000; MARTINELLI, 2008; MARTINELLI et al., 2012; SOARES, 2006, 2010; SOARES et al., 2005a, 2005b) também confirmaram o potencial de controle dos nematoides por fungos nematófagos em estudos no laboratório, em estufa e/ou campo. Os estudos foram desenvolvidos com o uso de coquetéis de fungos nematófagos e utilizadas nas culturas de crisântemo (*Dendranthema grandiflora*

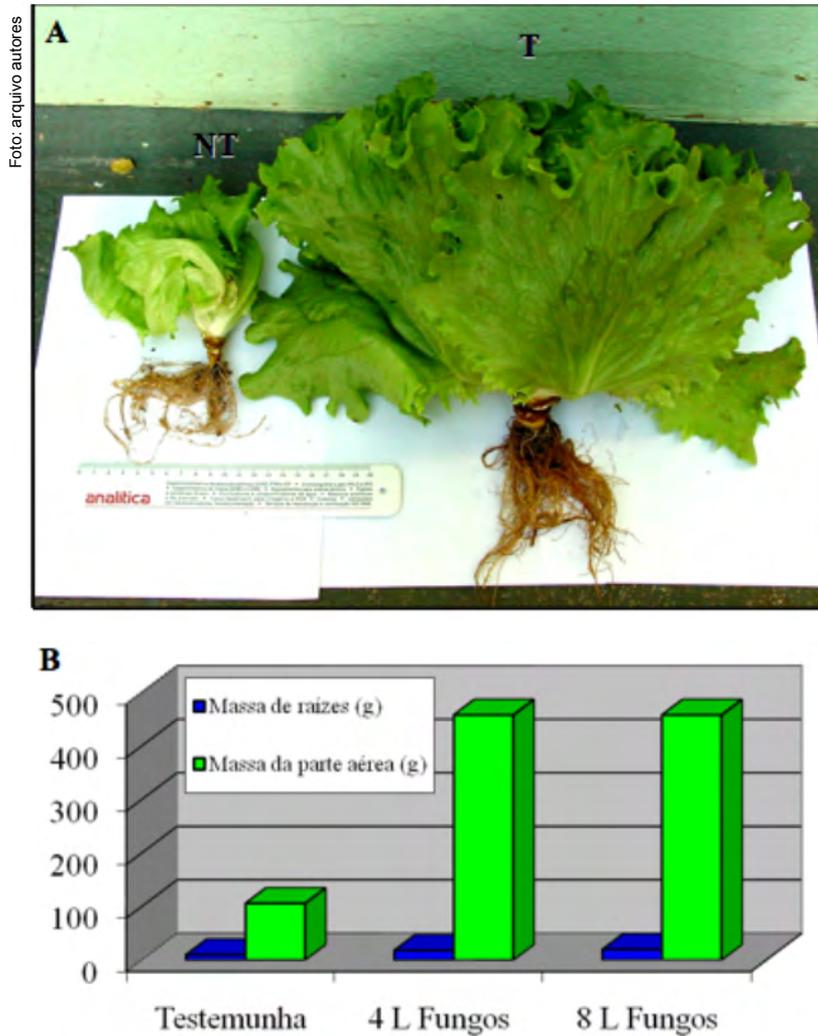
Tzvelev), alface (*Lactuca sativa* L.), pimentão (*Capsicum annuum* L.), quiabeiro (*Hibiscus esculentus* L.), seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell-Arg), cafeeiro (*Coffea arabica* L.), goiabeira (*Psidium guajava* L.), laranja (*Citrus sinensis* [L.] Osbeck) sobre porta-enxerto de limoeiro “Cravo” (*Citrus limonia* Osbeck), em áreas de produção comercial (BARBOSA et al., 2009; SOARES, 2006, 2010), em pomares comerciais de citros (CORBANI, 2002; MARTINELLI, 2008; MARTINELLI et al., 2012) em área de produção comercial de cana-de-açúcar (BARBOSA et al., 2011).

Na cultura do crisântemo, cinco fungos foram aplicados em mistura com o substrato utilizado na produção de mudas, na proporção de 1 L do coquetel para 100 L de substrato. Dessa forma, as raízes das mudas transplantadas para os canteiros de produção saíam das bandejas protegidas contra *M. javanica* (Treub) Chitwood. Neste experimento, obteve-se o controle do nematoide, em relação à testemunha sem aplicação dos fungos, resultando em canteiros cujas plantas exibiam crescimento e florescimento uniformes (Figuras 5 A-D). Além disso, o coquetel proporcionou plantas com hastes de melhor qualidade, maior tamanho e diâmetro (SOARES, 2006).

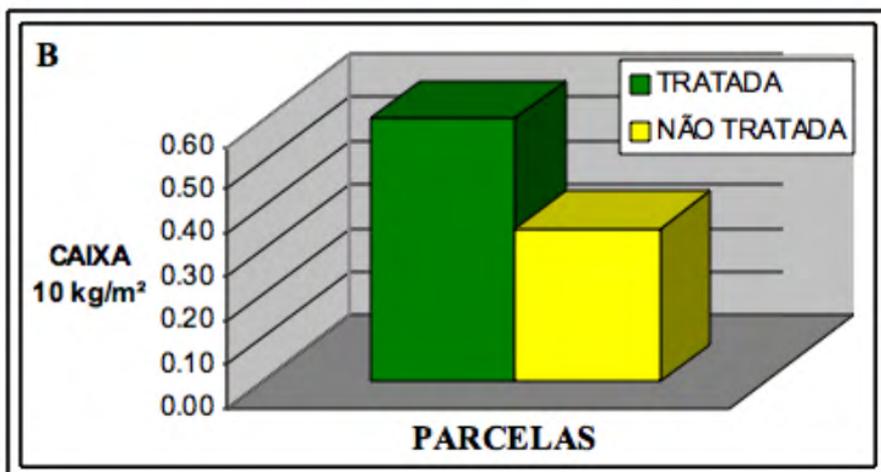


**Figura 5.** Canteiros com crisântemo de corte, em ambiente protegido, infestados por *Meloidogyne javanica* e tratados com um coquetel de cinco fungos nematófitos. A e B) Plantas infectadas exibindo sintomas na parte aérea. C e D) Plantas em canteiros tratados exibindo desenvolvimento e florescimento uniformes.

Na cultura de alface, apenas uma aplicação de um coquetel de fungos foi suficiente para o controle de *Rotylenchulus reniformis* Linford e Oliveira e *M. incognita* (Kofoid e White) Chitwood, com um ganho no peso da cabeça de alface de mais de 400% em relação à testemunha (Figuras 6 A-B), que não recebeu nenhum tratamento (SOARES et al., 2005a). O mesmo coquetel de fungos proporcionou eficácia no controle de *M. incognita* na cultura do pimentão em estufa, mantendo a população do nematoide abaixo dos níveis de dano econômico até o período de 120 dias, resultando em melhor desenvolvimento das plantas nas parcelas tratadas (Figura 7A). A produtividade média das parcelas tratadas foi de 0,6 caixa de 10 kg/m<sup>2</sup>, enquanto nas parcelas não tratadas foi de, apenas, 0,35 caixa (Figura 7B), representando um ganho de quase 100% nas parcelas tratadas com os fungos nematófitos (SOARES et al., 2005b).



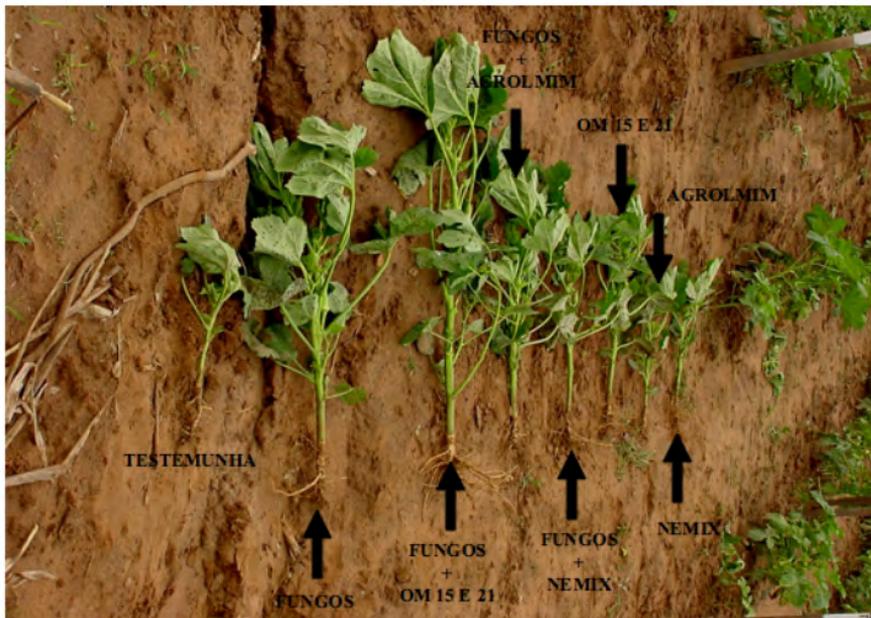
**Figura 6.** Efeito da aplicação de 4 L e 8 L de partes iguais de substrato colonizado por *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora* em parcelas de 5 m<sup>2</sup> com alface tipo americana “Lucy Brown”, infestados por *Meloidogyne incognita* e *Rotylenchulus reniformis*, em estufa, aos 54 dias após o transplantio. A) Aspecto de plantas de parcelas não tratadas (NT) e de parcelas tratadas (T). B) Médias das massas da matéria fresca da parte aérea e das raízes de 10 plantas de alface coletadas aleatoriamente nas parcelas. No tratamento testemunha, não foi aplicada a mistura dos fungos.



**Figura 7.** A) Parcelas de pimentão em estufa infestada por *Meloidogyne incognita* tratadas (setas) e não tratadas com partes iguais de um preparado especial de arroz colonizados pelos fungos *Arthrobotrys musiformis* e *A. oligospora*, aos 60 dias após o transplante das mudas. B) Produtividade média de pimentão nas parcelas tratadas e não tratadas em caixa de 10kg/m<sup>2</sup>.

Em estudo avaliando um coquetel de fungos associados ou não com outros produtos de origem orgânica no controle de nematoides em quiabeiro a campo, em Piacatu/SP, todos os tratamentos avaliados, proporcionaram médias superiores a 63 e 73% de controle de *M. javanica* em relação à testemunha nas raízes e no solo, respectivamente, em pelo menos um dos períodos avaliados. Para *P. brachyurus* (Godfrey) Filipjev e Schuurmans Stekhoven, o controle foi superior a 75%. Os melhores tratamentos em ordem decrescente pelo aspecto visual de desenvolvimento das plantas foram: fungos + OM-15 + OM-21; fungos; fungos + Agrolmim; fungos + Nemix; OM-15 + OM-21; Agrolmim; Nemix e testemunha (Figura 8) (SOARES, 2010).

Foto: arquivo autores



**Figura 8.** Plantas de quiabeiro aos 60 dias após a semeadura, retiradas de parcelas infestadas por *Meloidogyne javanica* e *Pratylenchus brachyurus* em área de produção comercial (Piacatu - SP), exibindo diferenças no desenvolvimento, com seu respectivo tratamento.

Em seringueira clone RRIM 600, implantada em 1983, na região de Rondonópolis-MT, um coquetel dos fungos nematófagos, associado ou não com produtos de origem orgânica e gradagem do solo, evidenciaram que tanto no solo quanto nas raízes o controle de *M. exigua* (Goeldi) apresentou médias superiores a 70% em relação à testemunha, em pelo menos uma das avaliações. Esses tratamentos também proporcionaram aumento no diâmetro do tronco das seringueiras, à altura do peito do avaliador, sendo que após 12 meses houve uma variação de 1,7 a 4,9%, em relação à testemunha, exceto para o tratamento apenas com gradagem que proporcionou redução de aproximadamente 0,6% no diâmetro, em relação à testemunha (SOARES, 2010).

Na cultura do cafeeiro “Obatã”, com cinco anos, em Altinópolis-SP, todos os tratamentos avaliados, utilizando coquetel de fungos nematófagos associado ou não com produtos de origem orgânica proporcionaram, tanto no solo como nas raízes do cafeeiro, médias superiores a 70% de controle de *M. exigua*, semelhante ao tratamento padrão (aldicarbe) em pelo menos um dos períodos avaliados. Algumas das combinações de fungos e matéria orgânica proporcionaram aumento variando de 5% a 110% na produção do cafeeiro em relação à testemunha (SOARES, 2010). Em outra variedade de cafeeiro (Catuaí Vermelho Rubi), infectado com *M. paranaenses* Carneiro *et al.*, com oito anos, irrigado por gotejamento, em Patrocínio-MG o coquetel de fungos nematófagos individualmente ou em mistura com produtos de origem orgânica e tanto no solo como nas raízes, também proporcionaram médias superiores a 70% de controle do nematoide, em pelo menos um dos períodos avaliados, controle semelhante aos padrões aldicarbe e terbufós (SOARES, 2010).

Em área de cultivo comercial de goiabeira “Paluma” infestada com *M. enterolobii* Yang e Eisenback (sin. *M. mayaguensis* Rammah e Hirschmann) irrigada, com oito anos, em Vista Alegre do Alto/SP,

verificou-se resultados semelhantes no controle desta espécie de nematoide, com a utilização do coquetel de fungos nematófagos isolado ou misturado com produtos de origem orgânica (SOARES, 2010).

Uma formulação dos isolados de *M. eudermatum* (Drechsler) Subramanian, *D. leptospora* Drechsler, *A. musiformis*, *A. conoides* Drechsler e *P. lilacinum* foi avaliada nas doses de zero, 1, 2, 4 ou 6 L da formulação por planta e também aldicarbe como comparativo em pomares de laranja sobre porta-enxerto de limoeiro “Cravo”, infestados pelos nematoides dos citros (*Tylenchulus semipenetrans* Cobbe e *Pratylenchus jaehni* Inserra *et al.*), em Monte Alto e Itápolis, respectivamente, no estado de SP. Os resultados evidenciaram que as doses de 1 e 2 L da formulação foram as mais promissoras, com reduções de aproximadamente 90% da população dos nematoides dos citros em relação à testemunha sem a aplicação dos fungos nematófagos, enquanto que a redução da população dos nematoides nas parcelas tratadas com aldicarbe foi de 50% (MARTINELLI, 2008). Esses dados enfatizaram os resultados obtidos por Corbani (2002) que, em estudo do controle biológico a campo de *T. semipenetrans* com fungos nematófagos, observou diferença estatística significativa na população do nematoide com os tratamentos com os fungos.

Em outro experimento utilizando a mesma formulação mencionada no trabalho anterior, contendo cinco isolados de fungos nematófagos (FN), associados ou não com aldicarbe para o manejo de *P. jaehni* e *T. semipenetrans* em pomares de 18 e 20 anos de laranja ‘Pêra’ sobre porta-enxerto de limoeiro “Cravo”, em Itápolis e Taquaritinga, respectivamente, no estado de SP, Martinelli *et al.* (2012) verificaram a redução da população de ambos nematoides para todos os tratamentos até 180 dias de avaliação, diferindo estatisticamente da testemunha sem aplicação (Tabelas 1 e 2). Após a reaplicação dos tratamentos, aos 180 dias da primeira aplicação, a

população dos nematoides ainda foi reduzida, mas não diferiram da testemunha. A aplicação de aldicarbe com a formulação de fungos se mostrou viável, pois reduziram as populações de ambos os nematoides sem perda de eficiência dos fungos nematófagos.

Reddy et al. (1991) observaram máxima redução na população de *T. semipenetrans* na rizosfera de plantas cítricas com a combinação de torta de neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) + *P. lilacinum*. Reddy et al. (1996) também obtiveram redução da população de *T. semipenetrans* com uso de vários fungos combinados com tortas de mamona (*Ricinus communis* L.) e de neem (*Azadirachta indica* A. Juss.), tanto no solo como nas raízes. Esses autores mencionaram que os fungos nematófagos podem ser substitutos ou até mesmo podem ser aplicados junto com nematicidas, permitindo a redução das doses para o manejo dos nematoides dos citros.

Em área de produção comercial de laranja “Valência” sobre porta-enxerto de limoeiro “Cravo”, com 18 anos, infestada com *T. semipenetrans* em Itápolis/SP, foi avaliado um coquetel de fungos nematófagos isolados ou misturados com produtos de origem orgânica, sendo que tanto no solo como nas raízes dos citros, todos os tratamentos avaliados, além do padrão aldicarbe, evidenciaram médias superiores a 70% de controle de *T. semipenetrans* em pelo menos um dos períodos avaliados (SOARES, 2010). Martinelli (2008) testou diferentes doses da mesma formulação e encontrou resultados superiores a 90% de controle de *T. semipenetrans*. Corbani (2002) testou *A. musiformis*, *A. robusta* e *M. robustum* formulados em quirera de arroz para o controle de *T. semipenetrans*, em pomar de laranja, e também encontrou resultados promissores no uso de formulação contendo esses fungos nematófagos.

Em pomar de laranjeira ‘Pêra’ enxertado sobre limoeiro ‘Cravo’ com 15 anos de idade, infestado por *P. jaehni* e *T. semipenetrans* na Fazenda São Bento, no Município de Fernandópolis/SP, Mar-

tinelli et al. (2012) obtiveram resultados semelhantes no controle dos nematoides utilizando um coquetel de fungos nematófagos (*P. chlamydosporia*, *P. lilacinus*, *D. leptospora*, *M. eudermatum* e *A. musiformis*) e fontes de matéria orgânica (esterco de curral curtido e esterco de galinha curtido) em diferentes proporções. Foram observadas reduções significativas nas populações dos nematoides até 360 dias após a aplicação dos tratamentos, sendo realizada uma reaplicação aos 180 dias. Concluiu-se que a adição de esterco de galinha e de curral teve efeito positivo na aplicação concomitante com formulações de fungos nematófagos para o controle dos nematoides dos citros. O esterco de galinha demonstrou uma interação mais eficiente com a formulação dos fungos nematófagos na redução da população dos nematoides dos citros. Quando aplicado somente o esterco de galinha obteve-se reduções superiores ao esterco de curral (MARTINELLI et al., 2012).

No contexto de práticas agrícolas na agricultura orgânica, o uso de fertilizantes orgânicos é considerado uma forma de restaurar a biodiversidade no ambiente edáfico (GARCÍA-ÁLVAREZ et al., 2004), além de proporcionar aumento dos teores de nutrientes para as plantas e contribuir como fonte de alimento para a microbiota do solo. Jaffee (2004) demonstrou que, em parcelas sob manejo orgânico, os números de fungos nematófagos foram ligeiramente superiores aos das parcelas com manejo convencional tratadas com fertilizantes inorgânicos na cultura da uva na Califórnia.

**Tabela 1.** Médias da percentagem de controle de *Pratylenchus jaehni* com uma formulação contendo cinco fungos nematófagos associados com aldicarbe em pomar de 18 anos com laranja 'Pêra', enxertado sobre limoeiro "Cravo", em Itápolis/SP (MARTINELLI et al., 2012).

TRATAMENTO	Média da percentagem de controle de diferentes estádios de desenvolvimento de <i>P. jaehni</i> no solo e nas raízes <sup>1</sup>					
	60 dias	120 dias	180 dias	240 dia	300 dias	360 dias
1 L da formulação de 5 FN/planta	58,18 a	68,51 a	55,82 ab	61,93	49,79	56,55
2 L da formulação de 5 FN	94,65 a	85,02 a	92,66 a	69,44	59,96	65,55
1 L da formulação de 5 FN + 65 g de Temik® (Aldicarbe)	84,09 a	85,06 a	83,26 ab	61,02	65,37	35,77
2 L da formulação de 5 FN + 65 g de Temik® (Aldicarbe)	76,95 a	77,95 a	53,52 b	65,23	59,13	41,60
130 g de Temik® (Aldicarbe)	67,95 a	58,26 a	69,12 ab	72,19	69,29	74,70
65 g de Temik® (Aldicarbe)	68,89 a	52,61 a	75,14 ab	55,03	41,09	23,22

<sup>1</sup>Dados calculados em percentagem de controle em relação a prévia; - aumento da população em relação a prévia; FN = Fungos nematófagos.

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes, na coluna, diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> Não significativo; <sup>\*\*</sup> Significativo a 1%.

**Tabela 2.** Médias da percentagem de controle de *Tylenchulus semipenetrans* com uma formulação contendo cinco fungos nematófagos associados com aldicarbe em pomar de 20 anos com laranja 'Pêra', enxertado sobre limoeiro "Cravo", em Taquaritinga/SP (MARTINELLI et al., 2012).

TRATAMENTO	Média da percentagem de controle de diferentes estádios de desenvolvimento de <i>T. semipenetrans</i> no solo e nas raízes <sup>1</sup>					
	60 dias	120 dias	180 dias	240 dia	300 dias	360 dias
1 L da formulação de 5 FN/planta	43,46 ab	82,60 a	75,93 a	60,27	80,06	57,00
2 L da formulação de 5 FN	62,72 a	84,77 a	79,82 a	73,32	50,21	57,52
1 L da formulação de 5 FN + 65 g de Temik® (Aldicarbe)	17,81 ab	63,78 a	51,36 a	82,94	29,06	77,57
2 L da formulação de 5 FN + 65 g de Temik® (Aldicarbe)	61,06 a	69,29	73,25 a	67,71	69,57	69,14
130 g de Temik® (Aldicarbe)	49,91 a	95,85 a	86,27 a	64,16	83,97	79,80
65 g de Temik® (Aldicarbe)	16,15 ab	76,42 a	53,05 a	55,67	47,90	61,54

<sup>1</sup>Dados calculados em percentagem de controle em relação a prévia; - aumento da população em relação a prévia; FN = Fungos nematófagos.

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes, na coluna, diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade.

\* Significativo a 5%; \*\* Significativo a 1%; <sup>ns</sup> Não significativo.

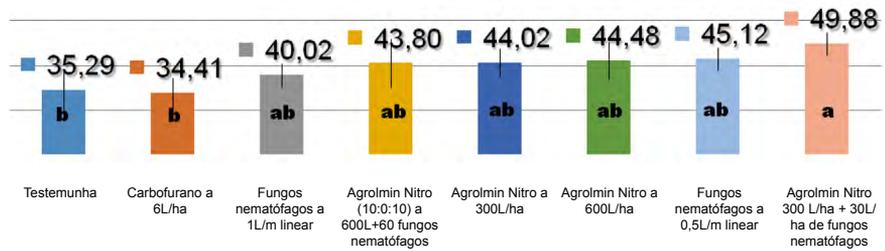
Em experimentos de controle biológico dos nematoides dos citros, Reddy et al. (1991), encontraram resultados mais promissores com aplicação de *P. lilacinus* associados com material orgânico. Le Roux et al. (2000) encontraram resultados semelhantes em pomares de laranja na região de Valência na Espanha com a aplicação de fungos nematófagos associados com matéria orgânica. A comparação do efeito de esterco de curral, esterco de galinha e esterco de frango, aplicados no solo, para estímulo da atividade de fungos nematófagos, levaram Wachira et al. (2009) à conclusão que o esterco de galinha tem maior efeito sobre a população de fungos nematófagos e também na redução da população de nematoides do solo. Em outros países como Austrália, Colômbia, Alemanha e África do Sul o controle biológico de nematoides dos citros já é uma prática comum, com produtos comercializados à base de *Paecilomyces lilacinus* (VERDEJO-LUCAS; MACKENRY, 2004).

Barbosa et al. (2011) avaliaram o controle de nematóides em um canavial “RB865547” de 4º corte situado no município de Pacaembú/SP, com alta infestação de *Pratylenchus zae* Graham e *M. javanica*. Foi avaliada a aplicação de ácidos húmicos e fúlvicos extraídos de turfa (Agrolmin® Nitro) associados ou não a uma Formulação de Fungos Nematófagos (FFN) e o nematicida Carbofurano (Furadan®). Imediatamente após o corte, foram feitas coletas das amostras para análise prévia das populações de nematoides e a aplicação dos tratamentos sobre a soqueira da cultura. O monitoramento das populações de nematoides foi realizado a cada 60 dias, por seis períodos a partir da aplicação dos tratamentos, imediatamente após o 4º corte até o 5º corte. Por ocasião do corte, foram realizadas as avaliações: número de nematoides por 100 cm<sup>3</sup> de solo e por 10 g de raízes; altura e diâmetro médio dos colmos (LANDELL; SILVA, 1995); número de internódios das plantas e massa de matéria fresca por ha (t/ha) dos colmos sem a ponta para obtenção da produtividade. A população de *P. zae* no solo não

variou entre os tratamentos, porém nas raízes foram observadas diferenças significativas aos 240, 300 e 360 dias após a aplicação dos tratamentos. A população manteve-se baixa durante o período de pico populacional com o tratamento Agrolmin a 300 L/ha + FFN a 10% (30 L/ha).

Para a população de *M. javanica* nas raízes, foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos aos 120, 240 e 360 dias após a aplicação, sendo que o tratamento com Agrolmin® a 300 L/ha + FFN a 10% (30 L/ha) foi o que proporcionou os menores níveis do nematoide durante os diferentes períodos de avaliação.

O tratamento com Agrolmin Nitro (10:0:10) a 300 L/ha + FFN a 10% (30 L/ha), proporcionou os menores níveis populacionais de *P. zae* e *M. javanica* nas raízes. Esses nematoides são endoparasitos; assim, a redução de sua população também reduz os danos causados nas raízes, podendo promover aumento na produtividade de massa de matéria fresca da parte aérea. O tratamento com Agrolmin Nitro (10:0:10) a 300 L/ha + FFN a 10% (30 L/ha) proporcionou aumento significativo na massa de matéria fresca da parte aérea sem as pontas no quinto corte da cultura da cana-de-açúcar (Figura 9). O carbofurano (Furadan®) proporcionou controle satisfatório das populações dos nematoides, contudo, não aumentou a produtividade da cultura. A formulação de fungos nematófagos/produto biológico adicionado no adubo organomineral Agrolmin Nitro (10:0:10) mostrou-se exequível, eficiente no controle de *P. zae* e *M. javanica* e no aumento da produtividade em área de produção comercial de cana-de-açúcar (BARBOSA et al., 2011).



**Figura 9.** Médias da massa de matéria fresca da parte aérea sem as pontas após o 5º corte da cana por ha (t/ha). Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. (BARBOSA et al., 2011).

## Perspectivas

A utilização de fungos nematófitos para o controle de nematoides é um tópico em ascensão no âmbito dos estudos realizados recentemente, devido a necessidade de utilização de práticas agrícolas sustentáveis. É fato que existem ainda muitas questões a serem trabalhadas acerca da formulação de novos produtos, contudo é evidente, como demonstrado neste capítulo, que o controle biológico é uma ferramenta eficaz, podendo em algumas circunstâncias ser superior ao controle químico, com as vantagens de ter um período de controle/ação maior, baixo impacto ambiental e baixo risco para a saúde humana e animal.

Até 2009, uma das grandes questões na obtenção de um bionemático para controle de nematoide era o registro. De acordo com Ferraz et al. (2010), o processo possui elevado custo (200 a 300 mil reais) e demora cerca de 3 anos, sendo específico para a cultura e nematoide. Em 23 de julho de 2009 foi sancionado o decreto presidencial Nº 6.913 que altera a legislação dos agrotóxicos, a lei Nº 7.802, de 11 de julho de 1989 (BRASIL, 1989). Com as alterações do decreto, o registro de um produto para controle fitossanitário com uso aprovado para a agricultura orgânica, o registro de um bionemático não precisa ser feito para cada cultura em que será utilizado, sendo necessário o registro somente para o alvo. Este

e outros fatores como a não exigência do RET (Registro Especial Temporário) para os experimentos de praticabilidade agrônômica, reduziram consideravelmente os custos e o tempo para obtenção, sendo possível que o mesmo ocorra em menos de um ano.

Existe uma série de produtos no mercado que contêm fungos nematófagos, principalmente *Purpureocillium* spp. e *Arthrobotrys* spp., mas que não possuem o registro de nematicida biológico. Portanto, não passaram pelos testes oficiais exigidos para um produto fitossanitário orgânico, não sendo o seu uso recomendado para o controle de nematoides. Esses produtos normalmente são registrados em outra categoria, como condicionador, inoculante natural, biocomposto, e outros.

Por outro lado, atualmente o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento vem incentivando o uso e registro de produtos biológicos que é um gargalo para o desenvolvimento de biopesticidas. A utilização de formas alternativas aos agrotóxicos convencionais, como os bionematicidas já é percebida com menor resistência por parte dos agricultores. Cabe aos pesquisadores e aos órgãos de extensão levar mais destes resultados aos agricultores e estabelecer parcerias entre as instituições de pesquisa e empresas a fim de disponibilizar novos produtos no mercado.

## Referências

ALCÂNTARA, V. S. B.; AZEVEDO, J. L. de. Isolamento e seleção de fungos predadores de nematoide. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 56, n. 3/4, p. 132-146, 1981.

BALAN, J.; GERBER, N. Attraction and killing of the nematode *Panagrellus redivivus* by the predacious fungus *Arthrobotrys dactyloides*. **Nematology**, Leiden, v. 18, n. 2, p. 163-173, 1972.

BAKER, K. F.; COOK, R. J. Biological control of plant pathogens. San Francisco: W.H. Freeman, 1974. 433 p.

BARBOSA, B. F. F.; BARBOSA, J. P. S.; SANTOS, J. M. dos; BARBOSA, J. C.; NEGRÍ, M. A.; SOARES, P. L. M. Eficácia do controle de nematoides em cana de açúcar com produtos orgânicos e biológicos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOSANIDADE, 1, 2011, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: FUNEP, 2011. p. 64-67.

BARBOSA, B. F. F.; SOUZA, G. P. F.; RUAS, A. R.; SANTOS, J. M.; BARBOSA, J. C. Controle biológico de *Pratylenchus brachyurus* em goiabeira com fungos nematófagos, bactérias e produtos orgânicos. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 33, n. 4, p. 380-381, 2009.

BARRON, G. L. **The nematode-destroying fungi**. Ghelph: Canadian Biological Publications, 1977. 140 p.

BERNARDO, E. R. A. **Eficácia do controle biológico de *Rotylenchulus reniformis* (Linford & Oliveira, 1940) em algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) com fungos nematófagos**. 2002. 74 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. 341p.

BLACKBURN, F.; HAYES, W. A. Studies on the nutrition of *Arthrobotrys oligospora* Fres. and *Arthrobotrys robusta* Dudd. I. The saprophytic phase. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 58, n. 1, p. 43-50, 1966.

BRASIL. Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 12 jul. 1989. Seção I, p. 11459.

CORBANI, R. Z. **Potencial do controle biológico de *Tylenchulus semipenetrans* com fungos nematófagos**. 2002. 44 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

COSTA, M. J. N.; CAMPOS, V. P.; PEENNING, L. H.; OLIVEIRA, D. F. Toxicidade de filtrados fúngicos a *Meloidogyne incognita*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 26, n. 4, p. 749-755, 2006.

DACKMAN, C.; OLSSON, S.; JANSSON H. B.; LUNDGREN, B.; NORDBRING-HERTZ, B. Quantification of predatory and endoparasitic nematophagous fungi in soil. **Microbial Ecology**, New York, v. 13, n. 1, p. 89-93, 1987.

DAVIES, K.; SPIEGEL, Y. (Ed.). **Biological control of plant-parasitic nematodes: building coherence between microbial ecology and molecular mechanisms**. New York: Springer Science, 2011. 311 p. NÃO CONSTA NAS CITAÇÕES

DIJKSTERHUIS, J.; VEENHUIS, M.; HARDER, W. Ultrastructural study of adhesion and initial stages of infection of nematodes by conidia of *Drechmeria coniospora*. **Mycological Research**, Madrid, v. 94, n. 1, p. 1-8, 1990.

FERRAZ, S.; FREITAS, L. G. de; LOPES, E. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R. **Manejo sustentável de fitonematoides**. Viçosa: UFV, 2010. 304 p.

FERRAZ, S.; DIAS, C. R.; FREITAS, L. G. de. Controle de nematoides com práticas culturais. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Manejo integrado fitossanidade: cultivo protegido, pivô central e plantio direto**. Viçosa: UFV, 2001. p. 1-53.

FERREIRA, P. A.; FERRAZ, S.; LOPES E. A.; FREITAS, L. G. de. Parasitismo de ovos de *Meloidogyne exigua* por fungos nematófagos e estudo da compatibilidade entre os isolados fúngicos. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, Chapadinha, v. 2, n. 1, p. 15-21, 2008.

GARCÍA-ÁLVAREZ, A.; ARIAS, M.; DÍEZ-ROJO, M. A.; BELLO, A. Effect of agricultural management on soil nematode trophic structure in a Mediterranean cereal system. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 27, n. 3, p. 197-210, 2004.

GRAY, N. F. Ecology of nematophagous fungi: effect of soil moisture, organic matter, distribution. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 17, n. 4, p. 499-507, 1985.

GRAY, N. F. Fungi attacking vermiform nematodes. In: POINAR JUNIOR, G. O.; JANSSON, H. G. (Ed.). **Disease of nematodes**. Boca Raton: CRC Press, 1988. v. 2. p. 3-38.

JAFFEE, B. A. Do organic amendments enhance the nematode-trapping fungi *Dactyellina haptotyla* and *Arthrobotrys oligospora*. **Journal of Nematology**, Riverside, v. 36, n. 3, p. 267-275, 2004.

JANSSON, H. B.; HOFSTEN, A. von; MECKLENBURG, C. Von. Life cycle of the endoparasitic nematophagous fungus *Meria coniospora*: a light and electron microscopic study. **Antonie van Leeuwenhoek**, Dordrecht, v. 50, n. 4, p. 321-327, 1984. Esta referência não está entre as citações

JANSSON, H. B.; NORDBRING-HERTZ, B. Interactions between nematophagous fungi and plant-parasitic nematodes attraction, induction of trap formation and capture. **Nematologica**, Leithen, v. 26, n. 4, p. 383-389, 1980.

JANSSON, H. B.; NORDBRING-HERTZ, B. The endoparasitic nematophagous fungus *Meria coniospora* infects nematodes specifically at the chemosensory organs. **Journal of General Microbiology**, Edinburgh, v. 129, n. 4, p. 1121-1126, 1983.

JANSSON, H. B.; NORDBRING-HERTZ, B. Involvement of sialic acid in nematode chemotaxis and infection by an endoparasitic nematophagous fungus. **Journal of General Microbiology**, Edinburgh, v. 130, n. 1, p. 39-43, 1984.

JANSSON, H. B.; TUNLIB, A.; NORDBRING-HERTZ, B. Biological control: Nematodes. In: ANKE, T. (Ed.). **Fungal biotechnology**. Weinheim: Chapman and Hall, 1997. p. 38-50.

JATALA, P. Biological control of plant-parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 24, p. 453-489, 1986.

JATALA, P.; SALAS, R.; BOCANGEL, M. Multiple application and long-term effect of *Paecilomyces lilacinus* in controlling *Meloidogyne incognita* under field condition. **Journal of Nematology**, Riverside, v. 13, n. 4, p. 445, 1981.

KERRY, B. R. An assessment of progress toward microbial control of plant-parasitic nematodes. **Journal of Nematology**, Riverside, v. 22, n. 4, p. 621-631, 1990. Supplement.

KERRY, B. R.; CRUMP, D. H.; MULLEN, L. A. Studies of the cereal cyst-nematode *Heterodera avenae* under continuous cereals, 1975-1978, fungal parasitism of nematode females and eggs. **Annals of Applied Biology**, Camberra, v. 100, n. 3, p. 489-499, 1982.

KUSESKE, D. W.; FUNK, B. R.; SCHULTZ, J. T. Effects and persistence of Baygon (propoxur) and Temik (aldicarb) insecticides in soil. **Plant Soil**, The Hague, v. 41, n. 2, p. 255-269, 1974. Esta referência não está entre as citações

LANDELL, M. G. A.; SILVA, M. A. Manual do experimentador: melhoramento da cana-de-açúcar. In: IAC. **Metodologia de experimentação**: ensaios de competição em cana-de-açúcar. Pindorama, 1995. p. 3-9. Apostila.

LE ROUX, H. F.; PRETORIUS, M. C.; HUISMAN, L. Citrus nematode IPM in Southern Africa. INTERNATIONAL CITRUS CONGRESS, 2000, Orlando. **Proceedings of the International Society of Citriculture...** Riverside: ISC, 2000. v. 2, p. 823-827, 2000.

LÝSEK, G.; NORDBRING-HERTZ, B. An endogenous rhythm of trap formation in the nematophagous fungus *Arthrobotrys oligospora*. **Planta**, Bonn, v. 152, n. 1, p. 50-53, 1981.

MAIA, A. S. **Isolamento, identificação e potencialidade de fungos como agentes de biocontrole de *Meloidogyne* spp. e *Heterodera glycines***. 2000. 117 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

MANKAU, R. Biocontrol: fungi as nematode control agents. **Journal of Nematology**, Riverside, v. 12, n. 4, p. 244-252, 1980.

MARTINELLI, P. R. P. **Estudos do controle biológico dos nematoides dos citros no Estado de São Paulo**. 2008. 106 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

MARTINELLI, P. R. P.; SANTOS, J. M.; BARBOSA, J. C. Eficácia de formulações contendo cinco fungos nematófagos para o manejo de *Pratylenchus jaehni* em citros. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 36, n. 1, p. 1-8, 2012.

MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Ed.). **Controle biológico**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 1998. 262 p.

MONFORT, E.; LOPEZ-LLORCA, L.V.; JANSSON, H-B.; SALINAS, J.; PARK, J. O.; SIVASITHAMPARAM, K. Colonization of seminal roots of wheat and barley by egg-parasitic nematophagous fungi and their effects on *Gaeumannomyces graminis* var. tritici and development of root-rot. **Soil Biology and Biochemistry**, Amsterdam, Oxford, v. 37, n. 7, p. 1229-1235, 2005.

MORGAN-JONES, G.; RODRÍGUEZ-KABANA, R. Fungal biocontrol for the management of nematodes. In: VEECH, J. A.; DICKSON, D. W. (Ed.). **Vistas in nematology**. Hyattsville: Society of Nematologists, 1987. p. 94-99.

NORDBRING-HERTZ, B. Peptide-induced morphogenesis in the nematode trapping fungus *Arthrobotrys oligospora*. **Physiologia Plantarum**, Frederiksberg, v. 29, n. 2, p. 223-233, 1973. Esta referência não está entre as citações

NORDBRING-HERTZ, B. Scanning electron microscopy of the nematode-trapping organs in *Arthrobotrys oligospora*. **Physiologia Plantarum**, Frederiksberg, v. 26, n. 2, p. 279-284, 1972. Esta referência não está entre as citações

NORDBRING-HERTZ, B.; JANSSON, H.; TUNLID, A. Nematophagous fungi. In: ENCYCLOPEDIA of life sciences. Lund: Wiley, 2011. p. 1-11

NOVARETTI, W. R. T. Controle biológico de nematoides fitopatogênicos. In: REUNIÃO SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE DONÇAS DE PLANTAS, 1986, Campinas. **Anais...** Piracicaba: Fundação Cargill, 1986. p. 24-38.

POINAR JUNIOR, G. O.; JANSSON, H. **Diseases of nematodes**. Boca Raton: CRC Press, 1988. v. 1. 149 p.

QADRI, A. N. **Fungi associated with sugarbeet cyst nematode in Jerash**. 1989. 126 f. M. Sc. Thesis – Jordan University Amman.

REDDY, P. P.; KHAN, R. M.; RAO, M. S. Integrated management of the citrus nematode *Tylenchulus semipenetrans* using oil-cakes and *Paecilomyces lilacinus*. **Afro Asian Journal of Nematology**, Herts, v. 1, p. 221-222, 1991.

REDDY, P. P.; RAO, M. S.; NAGESH, M. Management of the citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans*, by integration of *Trichoderma harzianum* with oil cakes. **Nematologia Mediterranea**, Bari, v. 24, n. 2, p. 265-267, 1996.

SANTOS, M. A. **Detecção, isolamento e avaliação do potencial antagonista de fungos nematófagos presentes em solos brasileiros**. 1991. 97 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SIDDIQUI, Z. A.; MAHMOOD, I. Some observations on the management of the wilt disease complex of pigeonpea by treatment with vesicular arbuscular fungus and bio-control agents for nematodes. **Bioresource Technology**, New York, v. 54, n. 3, p. 227-230, 1995.

SIDDIQUI, Z. A.; MAHMOOD, I. Biological control of plant parasitic nematodes by fungi: a review. **Bioresource Technology**, New York, v. 58, n. 3, p. 229-239, 1996.

SOARES, P. L. M. **Estudos do controle biológico de fitonematoides com fungos nematófagos**. 2006, 217 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

SOARES, P. L. M. **Formulação de fungos nematófagos à base de bagaço de cana e implantação de uma unidade piloto de produção e distribuição no Campus da UNESP/FCAV**. 2010. 257 f. Tese (Pós-Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

SOARES, P. L. M.; BARBOSA, B. F. F.; NOZAKI, M. de H.; SANTOS, J. M. dos; BARBOSA, J. C.; MÚSCARI, A. M. Controle biológico de *Meloidogyne incognita* e *Rotylenchulus reniformis* no cultivo de alface em ambiente protegido. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 25., 2005, Piracicaba, **Resumos...** Piracicaba: SBN, 2005a. p. 67.

SOARES, P. L. M.; FERRAZ, M. P. S.; BARBOSA, B. F. F.; NOZAKI, M. de H.; BRAZ, L. T.; SANTOS, J. M. dos; BARBOSA, J. C.; MÚSCARI, A. M. Controle biológico de *Meloidogyne incognita* na produção comercial de pimentão em ambiente protegido. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 25., 2005, Piracicaba, **Resumos...** Piracicaba: SBN, 2005b. p. 68.

STIRLING, G. R. **Biological control of plant-parasitic nematodes**: an ecological perspective, a review of progress and opportunities for further research. New York: Springer, 2011. p. 1-38.

VERDEJO-LUCAS, S.; MCKENRY, M. V. Management of citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans*. **Journal of Nematology**, Riverside, v. 36, n. 4, p. 424-432, 2004.

VIANE, N.; COYNE, D. L.; KERRY, B. R. Biological and cultural management. In: PERRY, R. N.; MOENS, M. (Ed.). **Plant nematology**. Cambridge: CABI, 2006. p. 347-363.

WACHIRA, P. M.; KIMENJU, J. W.; OKOTH, S. A.; MIBEY, R. K. Stimulation of nematode-destroying fungus by organic amendments applied in management of plant parasitic nematode. **Asian Journal of Plant Sciences**, Karachi, v. 8, n. 2, p. 153-159, 2009.

WARRIOR, P.; REHBERGER, L. A.; BEACH, M.; GRAU, P. A.; KIRFMAN, G. W.; CONLEY, J. M. Commercial development and introduction of DiTera™, a new nematicide. **Pest Management Science**, Brighton, v. 55, n. 3, p. 376-379, 1998.

## Manejo Integrado de Doenças e Pragas Utilizando o Controle Biológico

Trazilbo J. Paula Júnior, Marcelo A. B. Morandi e Madelaine Venzon

---

### Introdução

A expansão das fronteiras agrícolas no Brasil nas últimas décadas tem sido relacionada à mecanização das atividades, ao melhoramento genético das culturas, ao desenvolvimento de técnicas de produção intensiva e ao uso de agroquímicos. Muitos desses fatores foram fruto da adoção de programas governamentais por parte dos agricultores. Como o manejo de doenças e pragas é parte fundamental do modelo agrícola que preconiza elevados índices de produtividade, acabou ocorrendo, em muitos casos, uma dependência exagerada de agrotóxicos para o controle fitossanitário. Paralelamente, no momento atual da agricultura brasileira, têm surgido excelentes oportunidades de inovação no que se refere à segurança alimentar e ao desenvolvimento de tecnologias compatíveis com as boas práticas agrícolas.

O controle de doenças e pragas na agricultura chamada de “convencional”, com ênfase em calendários de aplicações de agrotóxicos, tem como base o retorno econômico imediato. Com as contaminações e desequilíbrios ambientais, presença de resíduos de agrotóxicos nos produtos agrícolas acima dos limites de tolerância, intoxicação de aplicadores e aumento no custo de produção, tem-se verificado que esse modelo é insustentável. Além disso, o uso contínuo e exclusivo do controle químico tem resultado na ocorrên-

cia de patógenos e pragas resistentes aos produtos. Muitas vezes, as aplicações atingem organismos não-alvo, gerando sérios desequilíbrios, como o surgimento de novas epidemias e infestações de pragas secundárias.

Com a adoção de tecnologias alternativas de controle fitossanitário, mantém-se o objetivo de alcançar altas produtividades, procurando-se, contudo, gerar o mínimo de impacto sobre os ecossistemas, a organização social e cultural das comunidades locais.

O manejo integrado de pragas e doenças é definido como a escolha e o uso inteligente de táticas de controle que produzirão consequências favoráveis dos pontos de vista econômico, ecológico e sociológico (KOGAN, 1988; LUCKMANN; METCALF, 1994). Assim, no contexto de controle fitossanitário, o manejo integrado envolve a otimização de estratégias de maneira lógica, tanto econômica quanto ecológica. Isso pode ser obtido por meio do uso simultâneo de diversas estratégias compatíveis, visando manter os danos abaixo do limiar de dano econômico, e, ao mesmo tempo, minimizar os prejuízos ao homem, animais, plantas e ambiente.

Com a implementação do manejo integrado, as estratégias de controle de doenças e de pragas são combinadas com o objetivo de tornar as plantas hospedeiras menos vulneráveis ou mais resistentes às infecções de patógenos e infestações de pragas, ao mesmo tempo em que as condições de ambiente deixem de favorecer a introdução desses organismos nas áreas produtivas. Naturalmente, essas estratégias variam de acordo com o patossistema e de local para local. A escolha das medidas de controle mais adequadas deve ser analisada criteriosamente, no sentido de verificar se, sob os aspectos ambientais e sociais, as relações de custo/benefício estão apropriadas. Ao recomendar qualquer medida, deve-se levar em consideração o nível de educação do produtor, se as recomendações estão em conformidade com as leis vigentes e se há

contribuição para a manutenção da sustentabilidade do agroecossistema.

A agricultura orgânica busca obter vantagem das interações de ocorrência natural, com ênfase no manejo das relações biológicas, como aquelas entre pragas e predadores, e em processos naturais, como a fixação biológica do nitrogênio. O objetivo é aumentar e sustentar as interações biológicas nas quais a produção agrícola está baseada, ao invés de reduzi-las e simplificá-las (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1989). O manejo fitossanitário na agricultura orgânica deve ser entendido como a integração de medidas não poluentes aplicadas preventivamente, visando à redução da intensidade da doença ou do ataque das pragas e o aumento da produção, da produtividade e da qualidade dos produtos agrícolas. Assim, enfatiza-se o emprego de medidas culturais, mecânicas, físicas, legislativas, biológicas e de resistência genética, com vistas à prevenção e à redução da intensidade do ataque. No caso do controle biológico, é fundamental conhecer como ocorrem as interações patógeno-antagonista, presa-predador e parasitoide-hospedeiro. Após a introdução de um agente microbiano de controle biológico, de um predador ou parasitoide, haverá o seu estabelecimento em um nicho, seguido da interação com o organismo-alvo e outras espécies de organismos. Essas interações complexas são fundamentais para o sucesso do controle e devem ser analisadas de modo holístico e consideradas em longo prazo (VENZON et al., 2001b). Assim sendo, há a necessidade de amplo conhecimento da ecologia de sistemas para o sucesso do controle biológico.

A produção de alimentos orgânicos cresce em ritmo acelerado em todo o mundo, e também no Brasil, o que se configura em grande oportunidade para a difusão de técnicas de manejo fitossanitário, envolvendo a utilização de agentes de controle biológico. Da mesma maneira, os agricultores convencionais são cada vez mais pressionados a reduzir a utilização de agrotóxicos e adotar formas mais

sustentáveis de manejo. Neste caso, também fica cada vez mais evidente a oportunidade de incluir os agentes de controle biológico entre as estratégias de manejo recomendadas.

### **Diversificação de culturas e controle biológico**

O aumento estratégico da diversidade nos agroecossistemas, ou seja, da biodiversidade funcional, que proporcionará o aumento das espécies de inimigos naturais, pode reduzir eficientemente as populações de pragas e patógenos (ALTIERI, 1999). Para isso, deve-se ter um conhecimento prévio da estrutura e do funcionamento da teia alimentar presente no sistema a fim de se manipular estrategicamente a diversidade da vegetação, visando ao aumento e à conservação daquelas espécies desejáveis (VENZON et al., 2001a).

Os agroecossistemas podem ser diversificados pela associação de plantas de espécies diferentes, podendo ser duas ou mais culturas (cultivos intercalares ou consorciados) ou uma cultura e uma ou mais plantas associadas (planta espontânea, cobertura verde, adubo verde). Em sistemas de cultivo caracterizados pela mistura de culturas (policulturas, consórcios ou multilinhas), por exemplo, as espécies suscetíveis podem ser cultivadas em densidades menores e o espaço entre elas pode ser ocupado por plantas resistentes que interessam ao agricultor (PAULA JÚNIOR et al., 2005). A menor densidade de plantas suscetíveis e a barreira oferecida pelas plantas resistentes dificultam a disseminação do patógeno, reduzindo a quantidade de inóculo no campo. Além do aumento da diversidade no espaço e aumento da diversidade no tempo, por meio da rotação de culturas, faz com que os processos biológicos auxiliem a proteção de plantas, como por exemplo, no controle de diversos fitopatógenos veiculados pelo solo.

A diversidade proporcionada pela associação de plantas pode levar a um aumento na abundância de predadores e de parasitoides e, na maioria dos casos, à consequente redução populacional das pragas. As causas desse aumento devem-se à disponibilidade e abundância de presas alternativas, de alimento derivados de plantas (néctar e pólen), e da presença de micro-habitats apropriados. Além disso, quando plantas hospedeiras são intercaladas com outras, diminui-se a incidência de insetos fitófagos especialistas, segundo a hipótese da concentração de recursos. As plantas associadas podem também ter características que repelem as pragas, ou que as atraem, sendo que em ambos os casos, dependendo do arranjo espacial destas plantas e da cultura principal, poderá haver redução significativa da população das pragas na cultura principal (VENZON et al., 2001a).

Na agricultura convencional a recomendação é de que as espécies invasoras são um obstáculo a ser superado; no entanto, na agricultura orgânica e em outras linhas de agricultura alternativa tenta-se tirar proveito desse recurso para o processo produtivo (PAULA JÚNIOR et al., 2005). Dessa forma, os efeitos positivos das plantas invasoras no manejo do solo e agroecossistema foram incorporados para cooperar na ciclagem de nutrientes, no aporte de matéria orgânica, no controle da erosão, como abrigo de inimigos naturais, como substrato para microrganismos, como cobertura da superfície, e como importante fator na conservação da água. Nesse sentido, as plantas invasoras contribuem também para a diversificação dos agroecossistemas e são ótimas indicadoras das condições em que se encontra o solo no tocante à fertilidade, estrutura e compactação, dentre outros aspectos (COSTA; CAMPANHOLA, 1997).

Além dos benefícios agronômicos e econômicos, a diversificação de culturas nas propriedades rurais traz benefícios sociais, pois estende a estação de trabalho dos empregados rurais, sendo este aspecto parte integrante da sustentabilidade. Entretanto, a diversi-

ficação indiscriminada da vegetação dentro de um agroecossistema pode não resultar na redução do risco de ocorrência de pragas e doenças (VENZON; SUJII, 2009). Deve-se, portanto, ter um conhecimento prévio de quais espécies vegetais melhor proporcionam o manejo ecológico de herbívoros (ISAACS et al., 2009). A seleção de plantas deve ser criteriosa, pois a vegetação espontânea associada a cultivos comerciais também pode atuar como hospedeira alternativa de artrópodes herbívoros. A manutenção dessas plantas no sistema de cultivo pode ter efeitos negativos ao manter populações de herbívoros em épocas de entressafra, ou positivo, se estas atuarem como plantas armadilhas, afastando herbívoros do cultivo principal (CAPINERA, 2005; NORRIS; KOGAN, 2005; WINKLER et al., 2009).

Em complementação ao manejo ambiental, proporcionado principalmente pela diversificação estratégica da vegetação, outras medidas não poluentes podem ser integradas e aplicadas no manejo fitossanitário e ao conseqüente aumento da produção, da produtividade e da qualidade dos produtos agrícolas.

Em policultivos, por exemplo, a menor densidade de plantas suscetíveis e a barreira oferecida pelas plantas resistentes dificultam a disseminação dos patógenos, reduzindo a quantidade de inóculo no campo e a ocorrência de epidemias. Além do aumento da diversidade no espaço e do aumento da diversidade no tempo, por meio da rotação de culturas, também faz com que os processos biológicos auxiliem a proteção de plantas, por exemplo, no controle de patógenos veiculados pelo solo (BRUGGEN, 1995). Um modelo de aplicação deste princípio no cultivo orgânico de hortaliças é realizado na Fazenda Yamaguishi ([www.yamaguishi.com.br](http://www.yamaguishi.com.br)) em Jaguariúna/SP. O efeito da combinação planejada de hortaliças com vegetação diversificada nas margens tem proporcionado, ao longo dos anos, a redução dos problemas fitossanitários, o que conseqüentemente minimiza a necessidade de intervenções específicas para o controle de epidemias de doenças e pragas.

## Métodos de controle de doenças

As estratégias de controle de doenças de plantas podem reduzir a quantidade de doença ou o inóculo inicial, ou causar o decréscimo da taxa de desenvolvimento da doença durante o período de crescimento da cultura.

Entre as medidas de redução da quantidade de doença ou inóculo inicial, incluem-se: exclusão (certificação de sementes e mudas, tratamento térmico e biológico de sementes e mudas, limpeza de máquinas, implementos e ferramentas destinados a podas, e indexação - cultura de tecidos e de meristema); erradicação (eliminação dos restos de cultura doentes, tratamento erradicante em pós-colheita de frutos com calor, eliminação de hospedeiros principais e/ou alternativos, eliminação de plantas doentes, eliminação de tiguerras e restevas no campo após a colheita, emprego de plantas armadilhas e antagônicas a nematoides, poda de ramos doentes, solarização do solo e de substratos, eliminação de patógenos pela cultura de tecidos, limpeza de embalagens, equipamentos e armazéns); terapia (termoterapia, cirurgias e podas de ramos doentes); resistência vertical (cultivares que impedem a multiplicação do patógeno).

Entre as medidas de redução da taxa de desenvolvimento de doença estão: resistência horizontal (cultivares que permitem baixos níveis de intensidade de doença); pré-imunização ou proteção cruzada; escape (escolha da área ou do local de plantio, alteração da época e da densidade de plantio, modificação do ambiente, com emprego de práticas culturais, eliminação de plantas ou parte de plantas doentes, preparo e irrigação do solo de forma adequada, uso de barreiras físicas como quebra-ventos, cultivo em ambiente protegido, enxertia e poda, plantio em locais de altitude elevada, armazenamento de frutos em ambientes refrigerados, e plantio a profundidades menores); proteção (no contexto de utilização de

práticas ecológicas inclui pulverizações com agentes de controle biológico, inclusive para o controle de insetos vetores, aplicação das caldas bordalesa, sulfocálcica e Viçosa e de outros produtos alternativos, como urina de vaca, composto de esterco bovino e biofertilizantes, resíduo da fermentação do melaço, leite cru, diversos fosfitos e outros sais, extratos de cogumelos, algas e plantas, e conservadores alimentares).

### **Controle biológico de doenças**

O conceito mais difundido de controle biológico de doenças de plantas é de um microrganismo específico (agente de biocontrole) controlando outro microrganismo (patógeno). Entretanto, este conceito é reducionista e não retrata o que de fato ocorre na natureza. Um conceito mais abrangente foi proposto por Cook e Baker (1983), para os quais o controle biológico é “a redução da soma de inóculo ou das atividades determinantes da doença provocada por um patógeno, realizada por ou através de um ou mais organismos que não o homem”. As atividades determinantes de doenças envolvem crescimento, infectividade, virulência, agressividade e outras qualidades do patógeno, ou processos que determinam infecção, desenvolvimento de sintomas e reprodução. Os organismos incluem indivíduos ou populações avirulentas ou hipovirulentas dentro das espécies patogênicas. Incluem, ainda, a planta hospedeira manipulada geneticamente ou por práticas culturais, ou microrganismos para maior ou mais efetiva resistência contra o patógeno; e antagonistas dos patógenos, definidos como microrganismos que interferem na sobrevivência ou atividades determinantes de doenças causadas por patógenos.

Nesta visão, o controle biológico pode ser acompanhado por práticas culturais para criar um ambiente favorável aos antagonistas e à resistência da planta hospedeira, ou ambas. Desta forma, poderia

ocorrer o melhoramento da planta para aumentar a resistência ao patógeno ou adequar o hospedeiro para as atividades dos antagonistas, bem como a introdução em massa de antagonistas, linhagens não patogênicas ou outros organismos, ou agentes benéficos.

No contexto do controle biológico, doença é o resultado de uma interação entre hospedeiro, patógeno e uma variedade de não-patógenos que também habitam o sítio de infecção e que têm potencial para limitar ou aumentar a atividade do patógeno ou a resistência do hospedeiro, todos influenciados pelo ambiente (COOK, 1985; COOK; BAKER, 1983).

O primeiro produto biológico para o controle de doenças de plantas foi comercializado no Brasil em 1987. Apenas em 2008 o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) emitiu o primeiro registro de um antagonista para o controle de doenças. Apesar disso, considera-se que o controle biológico está em crescimento no Brasil, ainda representando um pequeno segmento, devido à falta de produtos biológicos registrados e disponíveis no mercado e ao perfil conservador do agricultor brasileiro. A maior parte da comercialização de produtos microbianos é voltada para a agricultura convencional, principalmente para cultivos perenes e semi-perenes e cultivos protegidos.

Em um levantamento, Bettioli et al. (2009) verificaram que, de 109 produtos biológicos para o controle de doenças de plantas comercializados ao redor do mundo, 87 são recomendados para o controle de fungos. Desses, 45 são recomendados para patógenos veiculados pelo solo, 24 para patógenos da parte aérea ou pós-colheita e 18 para patógenos da parte aérea e de solo. Neste levantamento, 68% dos agentes de controle biológico eram fungos, 30% bactérias ou actinomicetos e 2% outros organismos incluindo algas e oomicetos. Do total de fungos, 63% eram espécies de *Trichoderma*. Entre as bactérias ou actinomicetos, 52% eram espécies de *Bacillus*.

Entre os produtos disponíveis no Brasil, destacam-se aqueles à base de *Trichoderma* spp., recomendados principalmente para o controle de fungos habitantes do solo. Levantamento feito por Bettiol e Morandi (2009) indica que, em 2008, havia 13 empresas de seis Estados da região centro-sul do Brasil produzindo e comercializando preparados à base de *Trichoderma*. A produção é basicamente por fermentação sólida em grãos de arroz, milho ou outros cereais, com volume de produção em torno de 550 toneladas por ano. As formulações incluem pós-molháveis, grânulos dispersíveis, suspensões concentradas e óleos emulsionáveis. Alguns produtos não são formulados, sendo comercializados como grãos colonizados ou esporos secos. As principais espécies comercializadas são *Trichoderma asperellum*, *T. harzianum*, *T. stromaticum* e *T. viride*. Em alguns produtos comercializados, entretanto, não há identificação de espécies. Entre os patógenos alvos estão, principalmente, espécies de *Fusarium*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Macrophomina*, *Sclerotinia*, *Sclerotium*, *Botrytis* e *Crinipellis*, e são recomendados para as culturas de feijão, soja, algodão, fumo, morango, tomate, cebola, alho, plantas ornamentais e cacau. Alguns produtos são recomendados para o tratamento de substratos e para o tratamento de sementes. Apesar de não existir padronização nas metodologias, as empresas geralmente avaliam a qualidade de seus produtos por contagem de esporos (mínimo de  $1 \times 10^8$  conídios/g), germinação (mínimo de 85%) e viabilidade (mínimo de  $8,5 \times 10^7$  ufc/g). A vida de prateleira dos produtos varia de 30 a 180 dias em temperatura ambiente (aproximadamente 25°C) e 180 a 360 dias em geladeira ou câmara fria (4-6°C).

Atualmente, o cenário do controle biológico tem se alterado bastante no Brasil, especialmente pela maior exigência dos agricultores com a qualidade do produto e com o maior rigor dos órgãos de registro e fiscalização (MAPA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA e Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos

Naturais Renováveis - IBAMA). Outro fato marcante foi o surgimento, no final de 2007, da Associação Brasileira de Empresas de Controle Biológico (ABCBio). Entre os objetivos da associação estão promover o controle biológico como uma técnica moderna, eficiente e ambientalmente favorável, e contribuir para a regulamentação do setor junto aos órgãos fiscalizadores, agregando empresas, governo e instituições de pesquisa (<http://www.abcbio.org.br>).

Houve avanços significativos na legislação federal de agrotóxicos, especialmente pela publicação da Instrução Normativa Conjunta nº 03/2006 (BRASIL, 2006), que regulamenta o processo de registro de agentes microbiológicos de controle fitossanitário. Hoje há um considerável número de pedidos de registro em andamento nos órgãos competentes. Verifica-se, também o fortalecimento das pequenas e médias empresas de controle biológico e a entrada de tradicionais empresas de agrotóxicos no desenvolvimento de produtos biológicos.

Especificamente para a agricultura orgânica, a publicação do Decreto nº 6.913, de 23 de julho de 2009 (BRASIL, 2009), que regulamenta o registro simplificado para produtos fitossanitários com uso aprovado para a agricultura orgânica, tem proporcionado um crescente interesse das empresas de controle biológico em desenvolver produtos para este segmento, o que deverá aumentar a disponibilidade de produtos comerciais devidamente registrados nos próximos anos.

Em contraste ao uso de preparados e de microrganismos trazidos de fora da lavoura, há aqueles que defendem os princípios do controle biológico “conservativo”, ou seja, através de ações que preservam e aumentam os antagonistas e predadores em seu próprio habitat (EHLER, 1998). Embora pareça conflitante, o controle biológico de patógenos com antagonistas residentes ou com o uso de antagonistas introduzidos, são duas estratégias que podem ser usadas de forma convergente (LUCAS; SARNIGUET, 1998).

## **Métodos alternativos de controle de pragas**

Diversas estratégias podem ser integradas e utilizadas como alternativas aos inseticidas convencionais no controle de pragas. É fundamental, no entanto, que seja feito o manejo ambiental do agroecossistema, baseado principalmente na diversificação da vegetação. As práticas utilizadas no manejo ecológico de pragas geralmente incluem: uso de plantas resistentes (cultivares com características físicas, químicas ou morfológicas que conferem resistência); controle cultural (aração do solo, rotação de culturas, podas, destruição de restos de cultura infestados, antecipação ou atraso da época do plantio ou colheita); controle por comportamento (feromônios em armadilhas para coleta massal, confundimento ou confusão sexual); extratos de plantas; e caldas fitoprotetoras e fertiprotetoras.

## **Controle biológico de pragas**

No contexto de controle de pragas o controle biológico é entendido como a supressão das populações de pragas com a utilização de organismos vivos (predadores, parasitoides e patógenos) (EILENBERG et al., 2001). Pode ser feito através de práticas que incrementem as populações de inimigos naturais já existentes nos agroecossistemas (controle biológico conservativo) (VENZON; SUJII, 2009) ou através da liberação inundativa ou inoculativa de agentes de controle biológico (EILENBERG et al., 2001).

Existem diversos produtos biológicos disponíveis no mercado brasileiro para o controle de pragas em várias culturas. Estes incluem ácaros predadores para o controle de ácaros fitófagos, parasitoides para o controle de lepidópteros, predadores para o controle de sugadores, além de produtos formulados a base de bactérias, vírus e fungos (PAULA JÚNIOR et al., 2009). O sucesso no uso desses

produtos depende, dentre outros, do uso de produtos com qualidade, do momento correto da aplicação/liberação do produto/agente de controle biológico e da manutenção de condições adequadas à atuação e permanência desses agentes em campo.

### **Integração do controle biológico com outras medidas alternativas**

A integração de métodos para o manejo de mais de um patógeno ou praga ao mesmo tempo aumenta as chances de sucesso de controle e contribui para a redução de custos. Muitas vezes apenas a integração do controle biológico com práticas conservacionistas, como plantio direto, rotação de culturas ou uso de coberturas vegetais, já produz resultados satisfatórios de controle. A integração de métodos fitossanitários é a principal forma de reduzir o uso de agrotóxicos em sistemas de produção, como tem se buscado no manejo integrado de pragas e na produção integrada de várias culturas (MORANDI, 2009; WIT et al., 2009). Entretanto, o seu sucesso só é possível com o conhecimento das possíveis interações entre plantas, fitófagos e patógenos e seus efeitos sobre a eficiência dos métodos considerados (PAULA JÚNIOR et al., 2007).

Uma experiência bem sucedida foi implantada em propriedade localizada em Holambra (SP), especializada no cultivo de lírio, cultura de alto valor agregado, e com histórico de utilização intensiva de fungicidas, inseticidas e acaricidas (WIT et al., 2009). Os problemas fitossanitários no lírio, incluindo doenças causadas por *Botrytis elliptica*, *Phytophthora*, *Fusarium*, *Sclerotinia*, *Penicillium*, *Rhizoctonia* e *Pythium*, e pragas como pulgões, *fungus gnatus*, bicho-mineiro, tripses e lagartas, são limitantes para o seu cultivo. Nessa propriedade, chegou-se a usar brometo de metila para manter o sistema produtivo em funcionamento, em função do desequilíbrio gerado ao longo do tempo. A partir desse ponto, foi tomada a deci-

são de alterar o sistema de cultivo. O uso de agrotóxicos foi paulatinamente substituído pela integração de métodos biocompatíveis para o controle fitossanitário, com introdução de vários microrganismos. A primeira medida foi deixar de utilizar agrotóxicos de faixa vermelha, fase que demorou aproximadamente um ano. Mais um ano foi necessário para substituir os agrotóxicos de faixa amarela. Finalmente, depois do terceiro ano, deixou-se de utilizar agrotóxicos na propriedade. Paralelamente à substituição dos agrotóxicos, foi alterada a fertilização da cultura para permitir a sobrevivência dos agentes de biocontrole que passaram a fazer parte do sistema. Atualmente, a produção de lírios na propriedade baseia-se na desinfestação do substrato com vapor, seguido de sua recolonização com *Trichoderma*, *Metarhizium*, *Beauveria* e microrganismos presentes em biofertilizante produzido aerobicamente, visando à eliminação do vácuo biológico promovido pela desinfestação. Além disso, são utilizados *Trichoderma*, *Clonostachys*, *Metarhizium*, *Beauveria* e *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. Quando necessário, são utilizados produtos como óleo de nim, própolis, fosfito e piro-alho. Associado a esses produtos e a uma fertilização equilibrada e controlada diariamente, um programa de sanitização, com a eliminação de plantas e partes de plantas doentes, é mantido em todas as estufas. Adicionalmente, são usadas armadilhas para o monitoramento e o manejo de pragas, além do controle da umidade relativa do ar dentro das casas de vegetação. Todas as caixarias, vasos e demais utensílios utilizados em cada ciclo produtivo, que varia de 30 a 90 dias, dependendo das variedades cultivadas, são desinfestados com substância à base de pinho. O sucesso dessa experiência não se deve apenas à substituição dos agrotóxicos por algum produto biocompatível, mas pela alteração de todo o sistema de produção, já que a simples substituição de produtos pode levar aos mesmos desequilíbrios causados pelos agrotóxicos.

Um sistema semelhante foi adotado para a cultura de *Spathiphyllum* (espatifilo, bandeira-branca ou lírio da paz) (WIT et al., 2009). A principal doença da cultura é a podridão de raiz e colo causada por *Cylindrocladium spathiphylli*, além dos sintomas causados por *Pythium*, *Phytophthora* e *fungus gnatus*. Os fungicidas disponíveis no mercado não são registrados para a cultura e não apresentam a eficiência desejada, devido aos problemas com a resistência do patógeno. O ciclo da cultura é de 18 meses, o que prolonga a exposição aos problemas fitossanitários. A estratégia de substituição dos agrotóxicos por técnicas alternativas de controle iniciou-se nas estufas de produção, onde foi estabelecido um programa de adoção de técnicas que não causassem estresses às plantas. A estratégia básica adotada foi o tratamento adequado do substrato. Além disso, foi montada uma estrutura na casa de vegetação que permitiu a elevação dos vasos em torno de 30 cm, com a finalidade de evitar a contaminação via solo. As plantas passaram a ser tratadas de forma preventiva com agentes de biocontrole (*Trichoderma* spp., *Metarhizium anisopliae*, *C. rosea*, *Beauveria* sp., *B. thuringiensis* var. *israelensis* e *B. subtilis*) e extrato fermentado de peixe. Ao final, a sanitização e o uso de armadilhas foram incorporados à rotina das casas de vegetação.

Apesar de os dois exemplos anteriores não se tratarem de cultivos orgânicos, verifica-se que as mudanças de mentalidade e práticas foram baseadas no entendimento das inter-relações entre os componentes da cadeia produtiva, princípio que é válido para a busca de modelos mais sustentáveis de agricultura e que é a base do processo de conversão para a agricultura orgânica.

A integração de métodos físicos e biológicos também foi eficiente no controle de patógenos em viveiro de *Cordia verbenacea* (erva-baleeira) (MORANDI, 2009). A erva-baleeira é uma planta medicinal cujo óleo essencial é usado comercialmente na fabricação de pomadas e *spray* com propriedades antiinflamatórias. Em função

do uso como fitoterápico, o cultivo desta planta deve ser isento do uso de agrotóxicos. A propagação de mudas é feita em viveiros. Um dos problemas fitossanitários detectados em viveiros tem sido o ataque de *Phoma* sp. O manejo integrado proposto para o controle da doença permitiu a redução drástica das perdas e incluiu:

- a. limpeza e desinfestação das instalações do viveiro;
- b. desinfestação prévia do substrato em coletor solar (GHINI; BETTIOL, 1991);
- c. recolonização do substrato com aplicação de biofertilizante à base de esterco bovino, visando ao incremento da diversidade e atividade microbianas no substrato (BETTIOL, 2006);
- d. manejo da irrigação, com a redução da frequência, para reduzir o período de molhamento foliar e limitar a ocorrência de ambiente favorável à infecção;
- e. proteção do filoplano, por meio da pulverização quinzenal de biofertilizante a 10%, visando à formação de uma “barreira biológica” sobre as mudas;
- f. manutenção da limpeza, com eliminação frequente total ou parcial de plantas doentes, visando à redução da disseminação do inóculo secundário do patógeno no interior do viveiro.

Outro exemplo é o manejo de ácaros fitófagos e patógenos em morangueiro. A cultura é atacada por diversos fitófagos, sendo os ácaros os mais importantes, com destaque para o ácaro-rajado *Tetranychus urticae*. A principal forma de controle desse ácaro em plantios comerciais de morangueiro é por meio da aplicação sistêmica de acaricidas. Contudo, essa estratégia apresenta uma série de desvantagens, como a não-especificidade, a contaminação do ambiente e a possibilidade de surgimento de sub-populações de pragas resistentes. Além das pragas, os morangueiros são in-

fectados por grande diversidade de espécies de patógenos, com destaque para *Botrytis cinerea*, causador do mofo-cinzento. Esse patógeno também causa perdas em ornamentais, hortícolas e frutíferas, sobretudo em cultivo protegido. Pode atacar as culturas em vários estádios de desenvolvimento e no armazenamento, o que dificulta o seu controle. A esporulação abundante nos restos culturais, principal fonte de inóculo, contribui para a manutenção de epidemias. Assim, preconiza-se a supressão da esporulação como estratégia de manejo (MORANDI et al., 2003). Os fungicidas, em geral, não são eficientes em suprimir a esporulação de *B. cinerea*, uma vez que interferem principalmente no processo de infecção e não são efetivos contra o patógeno nos restos culturais. Morandi et al. (2000) relataram que a infestação do ácaro-rajado em folhas de roseira aumentou a germinação, o crescimento e a esporulação de *B. cinerea*, demonstrando a importância do manejo integrado destes problemas.

A partir destas observações, propôs-se um esquema de manejo biológico integrado do ácaro-rajado e do mofo-cinzento que vem sendo realizado com sucesso desde 2005 no cultivo orgânico do morango em Serra Negra (SP), com a aplicação do agente de biocontrole *Clonostachys rosea* em conjunto com a liberação de ácaros predadores *Phytoseiulus macropilis* e *Neoseiulus californicus* (MORANDI; BETTIOL, 2008).

O fungo *C. rosea* é encontrado em diferentes habitats em regiões tropicais e temperadas, comumente associado a escleródios no solo e a tecidos vegetais senescentes; além disso, coloniza endofiticamente raízes, hastes, folhas e frutos de diferentes plantas (SUTTON et al., 1997). É eficiente no controle de *B. cinerea* em plantas de famílias distintas, como gerânio, begônia, ciclâmen, *Exacum*, roseiras e outras ornamentais, tomate, pimentão, pepino, framboesa, morango e mudas de eucalipto e de coníferas. Em morango, o antagonista é pulverizado semanalmente a partir do transplântio

das mudas, enquanto os ácaros predadores são liberados nas reboleiras logo que os primeiros ácaros-rajados são observados na cultura. Além da aplicação dos agentes de controle biológico, a limpeza da cultura (sanitização) é feita pela eliminação contínua de folhas e frutos doentes. Esta prática é de fundamental importância para a eficiência do manejo. No campo, a interrupção da limpeza proporcionou aumento da incidência da doença mesmo com a aplicação do agente de biocontrole.

A introdução destes agentes de biocontrole no sistema produtivo é segura do ponto de vista ambiental e de riscos à saúde humana. No caso de *C. rosea* há produtos registrados nos Estados Unidos e Canadá. No Brasil, o fungo é comercializado, porém ainda não há registro no MAPA. Os ácaros predadores também são comercializados no país e há processos de registro em andamento.

O uso de resistência genética pode, em determinados contextos, favorecer o manejo biológico e o convívio com patógenos de difícil controle. Uma experiência que tem demonstrado este fato é o cultivo orgânico de tomate em uma propriedade em Serra Negra (SP). Nesta área, o uso de matéria orgânica de boa qualidade, associado à rotação de culturas e à adubação verde proporcionou melhoria na qualidade do solo e à supressão de fungos habitantes do solo importantes na cultura, como *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *Verticillium albo-atrum* e *Rhizoctonia solani*. Entretanto, verificou-se um aumento da incidência e severidade da murcha-bacteriana, causada por *Ralstonia solanacearum*. Após várias tentativas sem sucesso de manejo da doença com práticas culturais e manejo do solo, a alternativa encontrada foi o uso da enxertia, com uma variedade de porta-enxerto tolerante à bactéria. Esta prática, associada ao manejo correto do solo, tem propiciado a supressividade dos principais patógenos habitantes do solo, garantindo, assim, alta produtividade da cultura.

## Considerações finais

O uso de agentes de controle biológico não deve ser enfatizado como alternativa de substituição direta dos agrotóxicos, mas como ferramenta estratégica no manejo fitossanitário no contexto atual da agricultura. O mercado em torno do controle biológico ainda é considerado pequeno. No entanto, enquanto o volume de negócios no mercado de defensivos químicos tem permanecido estável, o que tange ao controle biológico cresce a cerca de 15% ao ano (GLOBAL..., 2014).

O sucesso do controle biológico nos últimos anos pode ser observado de diferentes maneiras. Do ponto de vista científico, verifica-se que milhares de artigos científicos e técnicos têm sido publicados, com diferentes abordagens. Tem havido também inúmeros avanços nas áreas da biologia computacional, molecular, química analítica e estatística, os quais possibilitaram maior compreensão das interações envolvendo patógenos/pragas, plantas hospedeiras e antagonistas, predador/presa, parasitoide/hospedeiro. Do ponto de vista social e ambiental, pode-se dizer que há acentuado progresso, com muitas ações de conscientização sendo realizadas em vários níveis. Outro aspecto diz respeito às inovações obtidas em tecnologias de formulações, o que tem permitido aos fabricantes oferecer produtos mais confiáveis e com vida de prateleira mais longa. É preciso entender que os agentes de controle biológico são organismos vivos que sofrem pressões ambientais, incluindo radiação, variações de temperatura, umidade do solo e do ar e pH. Além disso, estão sujeitos a interferências externas relacionadas ao tempo de armazenamento, tecnologia de aplicação e manuseio, bem como a competição com outros microrganismos. As limitações dos fatores ambientais e relacionadas às condições de uso podem ser reduzidas com melhorias na tecnologia de formulação, avanços em biotecnologia e aumento da compreensão da fisiologia dos microrganismos.

Outro aspecto que requer mudança diz respeito ao chamado modelo um-a-um, em que um antagonista é relacionado a um patógeno/praga específico, para um modelo que considere uma combinação de organismos, com o objetivo de aumentar o espectro de ação e a efetividade do controle. Este novo conceito se encaixa com os objetivos do manejo integrado de pragas e aumenta a eficácia do biocontrole e a sua credibilidade. Entre os desafios da pesquisa incluem-se: a identificação de novos agentes de controle biológico; o desenvolvimento de novas formulações e de estratégias de uso eficazes e compatíveis; a integração dos produtos biológicos aos sistemas de produção; a capacidade de treinamento de extensionistas e produtores sobre a disponibilidade e a utilidade de bioprodutos; as constantes avaliações de custo-benefício do controle biológico, para que sejam praticados preços aceitáveis para os consumidores e sustentáveis para a indústria; o aumento da escala e da eficiência de métodos de produção em massa de antagonistas e o controle de qualidade dos produtos; o aumento da eficiência de práticas para reduzir o uso de insumos escassos, caros ou ambientalmente danosos; a integração e/ou a substituição de insumos e práticas convencionais por práticas sustentáveis, incluindo o plantio direto, a fixação biológica de N, a integração lavoura-pecuária-floresta e outros conceitos da produção integrada.

Em geral, tecnologias de manejo alternativo fitossanitário podem conduzir ao maior equilíbrio do agroecossistema. Entretanto, requerem alto nível tecnológico para que sejam eficientemente empregadas. Há carência de estudos mais aprofundados para a recomendação do uso de agentes de controle biológico, de caldas e misturas, para avaliar não somente em que relação patógeno/praga-hospedeiro seriam eficientes, mas também os possíveis riscos à saúde humana e animal e ao ambiente. As pesquisas em agricultura orgânica requerem a estreita colaboração entre agrônomos, ecologistas, especialistas em solos e proteção de plantas e economistas.

Mesmo com o enfoque ecológico expresso na legislação ambiental, a política agrícola nacional ainda se encontra incipiente no que se refere à expansão de práticas agrícolas alternativas e ecologicamente sustentáveis. Apesar dos avanços observados nos últimos anos, com inúmeros resultados científicos em controle biológico de pragas e fitopatógenos, os incentivos governamentais para o uso dessas práticas são ainda restritos.

O mercado brasileiro de agentes de controle biológico de doenças de plantas tem crescido e se diversificado significativamente nos últimos anos. O crescimento da agricultura orgânica tem tido um papel importante na conscientização e adoção do controle biológico e de outros métodos alternativos na agricultura para o controle dos problemas fitossanitários. Esse modelo de agricultura colabora para a racionalização do uso de agrotóxicos e atende às exigências de uma produção de alimentos saudáveis e com qualidade ambiental. Além do crescimento da agricultura orgânica, outros fatores têm sido apontados como determinantes para a maior utilização de agentes de controle biológico, como a própria percepção do público em geral, a segurança dos operadores e a sustentabilidade do ambiente. Entre os fatores que contribuem para frear o crescimento do mercado de bioprodutos estão questões meramente culturais, a baixa disponibilidade dos produtos e a falta de conhecimento por parte de técnicos, extensionistas e agricultores.

### **Agradecimentos**

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelas bolsas de pesquisa e pelo suporte ao desenvolvimento de tecnologias alternativas para o manejo de doenças e pragas.

## Referências

- ALTIERI, M. A. The ecological role of biodiversity in agroecosystems. **Agriculture Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 74, n. 1-3, p. 19-31, 1999.
- BETTIOL, W. Productos alternativos para el manejo de enfermedades em cultivos comerciales. **Fitosanidad**, La Havana, v. 10, n. 2, p. 85-98, 2006.
- BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. *Trichoderma* in Brazil: history, research, commercialization and perspectives. In: ELAD, Y.; MAURHOFER, M.; KEEL, C.; GESSLER, C.; DUFFY, B. (Ed.). **Molecular tools for understanding and improving biocontrol**. Dijon: IOBC, WPRS, 2009. p. 235-237. (IOBC/WPRS Bulletin, v. 43).
- BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B.; PINTO, Z. V.; PAULA JÚNIOR, T. J.; CORREA, E. B.; MOURA, A. B.; LUCON, C. M. M.; COSTA, J. C.; BEZERRA, J. L. Bioprotectores comerciais para doenças de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 17, p. 27-47, 2009.
- BRASIL. Decreto n. 6.913, de 23 de julho de 2009. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 27 jul 2009. Seção 1, p. 8.
- BRASIL. Instrução normativa conjunta nº 3, de 10 de março de 2006. Estabelece normas específicas para fins de registro de produtos microbiológicos que se caracterizem como produtos técnicos, agrotóxicos e afins. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 15 mar. 2006. Seção 1, p. 23-25.
- BRUGGEN, A. H. C. van. Plant disease severity in high-input compared to reduced-input and organic farming systems. **Plant Disease**, St. Paul, v. 79, n. 10, p. 976-984, 1995.
- CAPINERA, J. L. Relationships between insect pests and weeds; an evolutionary perspective. **Weed Science**, Gainesville, v. 53, n. 6, p. 892-901, 2005.
- COOK, R. J. Biological control of the pathogens: theory to application. **Phytopathology**, St. Paul, v. 75, n. 1, p. 25-29, 1985.
- COOK, R. J.; BAKER, K. F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. St. Paul: APS, 1983. 539 p.
- COSTA, M. B. B.; CAMPANHOLA, C. **A agricultura alternativa no estado de São Paulo**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1997. 63 p. (Embrapa-CNPMA. Documentos, 7).

EHLER, L. E. Conservation biological control: past, present and future. In: BARBOSA, P. (Ed.). **Conservation biological control**. San Diego: Academic Press, 1998. p. 1-8.

EILENBERG, J.; HAJEK, A.; LOMER C. Suggestions for unifying the terminology in biological control. **BioControl**, Dordrecht, v. 46, n. 4, p. 387-400, 2001.

GHINI, R.; BETTIOL, W. Coletor solar para desinfestação de substratos. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 17, n. 3-4, p. 281-286, 1991.

GLOBAL biopesticides market: trends & forecasts (2012-2017). Disponível em: <[http://www.researchandmarkets.com/reports/2154001/global\\_biopesticides\\_market\\_trends\\_and\\_forecasts](http://www.researchandmarkets.com/reports/2154001/global_biopesticides_market_trends_and_forecasts)>. Acesso em: 15 set. 2014.

ISAACS, R.; TUELL, J.; FIEDLER, A.; GARDINER, M.; LANDIS, D. Maximizing arthropod-mediated ecosystem services in agricultural landscapes: the role of native plants. **Frontiers in Ecology and the Environment**, Washington, DC, v. 7, n. 4, p. 196-203, 2009.

KOGAN, M. **Ecological theory and integrated pest management**. New York: Wiley Interscience, 1988. 362 p.

LUCAS, P.; SARNIGUET, A. Biological control of soil-borne pathogens with resident versus introduced antagonists: Should diverging approaches become strategic convergence? In: BARBOSA, P. (Ed.). **Conservation biological control**. San Diego: Academic Press, 1998. p.1-8.

LUCKMANN, W. H.; METCALF, R. L. The pest management concept. In: METCALF, R. L.; LUCKMANN, W. H. (Ed.). **Introduction to insect pest management**. New York : John Wiley & Sons, 1994. p. 1-34.

MORANDI, M. A. B. Integração de métodos físicos e biológicos no controle de doenças em viveiros de plantas medicinais: estudo de caso com *Cordia verbenacea*. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna. Embrapa Meio Ambiente. 2009. p. 337-341.

MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Integração de métodos biocompatíveis no manejo de doenças e pragas: experiências em plantas ornamentais e medicinais. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, DF, v. 33 (Supl.), p. 31-34, 2008. Edição dos anais do 41º Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Belo Horizonte, ago. 2008.

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 on Botrytis blight management in commercial greenhouses. **Biological Control**, Orlando, v. 26, n. 3, p. 311-317, 2003.

MORANDI, M. A. B.; SUTTON, J. C.; MAFFIA, L. A. Relationships of aphid and mite infestations to control of *Botrytis cinerea* by *Clonostachys rosea* in rose (*Rosa hybrida*) leaves. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 28, n. 1, p. 55-64, 2000.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Alternative agriculture**. Washington, DC: National Academy Press, 1989. 448 p.

NORRIS, R.; KOGAN, M. Ecology of interactions between weeds and arthropods. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 50, p. 479-503, 2005.

PAULA JUNIOR, T. J.; MORANDI, M. A. B.; ZAMBOLIM, L.; SILVA, M. B. Controle alternativo de doenças de plantas: histórico. In: VENZON, M.; PAULA JÚNIOR, T. J.; PALLINI, A. (Ed.). **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa: EPAMIG, CTZM, 2005. p. 135-162.

PAULA JÚNIOR, T. J.; VENZON, M.; MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W.; PALLINI, A.; TEIXEIRA, H. Comercialização de produtos biológicos para o controle de doenças de plantas e pragas no Brasil. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 30, n. 251, p. 116-123, 2009.

PAULA JÚNIOR, T. J.; TEIXEIRA, H.; FADINI, M. A. M.; VENZON, M.; JESUS JÚNIOR, W. C.; MORANDI, M. A. B.; PALLINI, A. Interações entre fitófagos e patógenos de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 15, p. 353-402, 2007.

SUTTON, J. C.; LI, DE-W.; PENG, G.; YU, H.; ZHANG, P.; VALDEBENITO-SAN-HUEZA, R. M. *Gliocladium roseum*: a versatile adversary of *Botrytis cinerea* in crops. **Plant Disease**, St. Paul, v. 81, n. 4, p. 316-328, 1997.

VENZON, M.; PALLINI, A.; AMARAL, D. S. S. L. Estratégias para o manejo ecológico de pragas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 22, n. 212, p. 19-28, 2001a.

VENZON, M.; PALLINI, A.; JANSSEN, A. Interactions mediated by predators in arthropod food webs. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 1-9, 2001b.

VENZON, M.; SUJII, E. R. Controle biológico conservativo. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 30, n. 251, p. 7-16, 2009.

WIT, J. P. W. de; KIEVITSBOSH, R. A.; BETTIOL, W. Integração de métodos físicos e biológicos para o controle de doenças e pragas em lírio e espatifilo. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 331-336.

## Uso de Taninos de Acácia-Negra no Controle da Fusariose do Abacaxizeiro

Rêmulo Araújo Carvalho

---

### Introdução

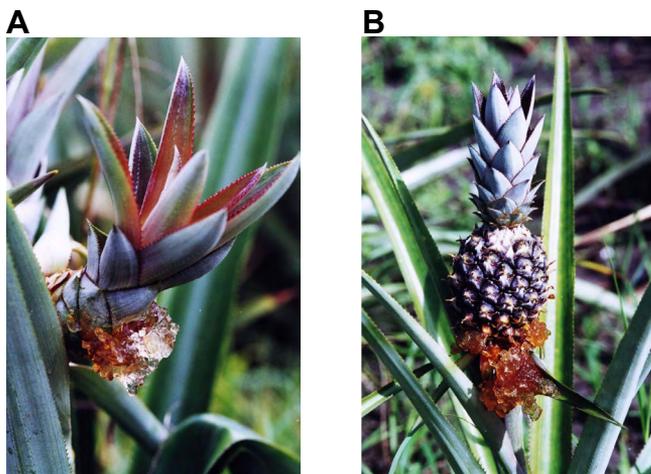
Fusariose é um termo genérico utilizado para se referir às doenças de plantas causadas por fungos do gênero *Fusarium*. Estes fungos causam doenças em várias culturas agrícolas como cereais, pimenta, soja, videira, maracujá e abacaxi. A fusariose do abacaxizeiro é causada pelo *Fusarium subglutinans*. Este fungo ataca as mudas, as plantas em desenvolvimento e, principalmente, os frutos, causando apodrecimentos que desqualificam o produto para o consumo e comercialização. No Brasil, ela é considerada a mais destrutiva doença do abacaxizeiro, capaz de causar prejuízos econômicos (MATOS, 1999).

O sintoma típico da fusariose é a exsudação de uma substância gomosa ou resinosa das regiões infectadas de mudas, caules e frutos, originando, assim, os nomes populares de gomose ou resinose para essa doença (Figura 1). Como a planta também produz resina quando é danificada por insetos, por vezes, o diagnóstico pode ser confundido. No fruto, essa confusão é logo dissipada ao se observar que a resina é expelida pelo orifício da cavidade floral.



**Figura 1.** Lesão típica da fusariose causada pelo fungo *Fusarium subglutinans*

O fungo penetra no fruto em formação pela abertura natural proporcionada pelas flores, e a resina formada após o estabelecimento da doença deixa o fruto pela mesma porta de entrada (Figuras 2A, 2B e 3).



**Figura 2.** Exsudação de goma ou resina na muda (A) e no fruto (B).



**Figura 3.** Goma ou resina saindo pelo orifício da cavidade floral

A incidência da fusariose do abacaxizeiro é favorecida pela coincidência de um período chuvoso e de temperaturas amenas durante a fase de abertura das flores. Como o fungo penetra pelas flores, é durante esse período de floração que se recomenda fazer a aplicação preventiva com fungicidas químicos. Cada inflorescência em desenvolvimento deve ser pulverizada individualmente, planta por planta. Visto que as flores vão se abrindo, gradativamente, da base para o ápice da inflorescência, essas pulverizações precisam ser repetidas semanalmente para assegurar que nenhuma flor fique desprotegida. Basta apenas uma aplicação de fungicida mal feita para que algumas flores fiquem sem ser pulverizadas e se tornem portas de entradas para o *Fusarium*. Assim, para um controle satisfatório da fusariose, em regiões de climas favoráveis à doença, recomenda-se iniciar a aplicação de fungicidas com o surgimento da inflorescência na roseta foliar, que ocorre 45 dias após o tratamento de indução floral e continuar as aplicações semanais até que todas as flores estejam fechadas (MATOS, 2000).

Apesar da eficiência dos fungicidas químicos no controle de doenças de plantas, estes contaminam o ambiente e os próprios

consumidores, que estão cada vez mais conscientes dos efeitos cancerígenos de alguns fungicidas. Diante disso, a busca por produtos naturais (PINTO et al., 2001) tem aumentado. Nesse sentido, a pesquisa agrônômica tem recorrido a práticas de manejo integrado de pragas e doenças que consistem na integração de técnicas alternativas de controle com as técnicas tradicionais, ao mesmo tempo aprimora os estudos com produtos naturais para substituir a utilização de fungicidas químicos.

Dentre os produtos naturais com potencial antibiótico contra o *F. subglutinans* a pesquisa agrônômica tem selecionado os taninos como um dos mais promissores, pela sua eficiência, propriedades terapêuticas e ausência de efeitos colaterais.

### **Definição, etimologia e utilização de taninos**

Os taninos são substâncias encontradas em diversas partes vegetais como sementes, folhas, frutos e cascas de árvores. Quimicamente são definidos como compostos fenólicos ou polifenóis, solúveis em água, que têm propriedades de associação e precipitação de proteínas (PLANTS..., 2012). Essas substâncias são as responsáveis pela característica adstringente dos frutos verdes, capaz de causar aquela sensação de aperto na garganta quando se prova, por exemplo, um caqui ou um caju quando ainda não estão maduros. Neste caso, os taninos precipitam as proteínas da saliva que perdem, assim, seus poderes lubrificantes, e nos deixam com a sensação adstringente na boca (EDAGI; KLUGE, 2009).

A origem da palavra tanino pode ser rastreada pela palavra inglesa “tan” que significa a cor bronzeada produzida na pele pelos raios solares, usada frequentemente na expressão popular “to get a tan” que quer dizer, “bronzear-se ou pegar um bronze”. Por sua vez a palavra “tan” origina-se de radicais semelhantes encontrados no

latim medieval “tannare”, no francês medieval “tanner” e no inglês antigo “tannian” que significam “transformar em couro”. Em antigas línguas célticas e germânicas, como no caso do antigo idioma bretão, a palavra “tann” significa a árvore do carvalho (OXFORD..., 2012). Por essa razão, o termo “tanino” foi usado originalmente para definir o princípio adstringente isolado da casca do carvalho que possuía a propriedade de evitar que as peles dos animais apodrecessem, sendo assim, transformadas em couros (DINIZ et al., 1997). Assim, pode-se correlacionar o significado atual da palavra “tan” em inglês, significando bronzeamento da pele por exposição solar, com a coloração bronzeada dos couros provocada pelas cascas de carvalho utilizadas antigamente durante seus processos de curtimento. Essa tecnologia de curtir peles de animais com taninos vegetais tem sido usada por quase todos os povos da antiguidade que desenvolveram métodos de curtimento usando plantas disponíveis em suas regiões. Esse curtimento do couro era essencial para fabricação de recipientes para carregar ou armazenar água, leite e outros alimentos, além de artefatos de guerra como escudos, couraças e calçados.

No Brasil, essa adaptação regional de tecnologias de curtimento de peles também varia com a localidade e com as espécies vegetais disponíveis em cada bioma onde o ciclo do gado se desenvolveu. Por isso, ainda hoje, diferentes plantas são usadas para curtir peles em diferentes regiões. Por exemplo, no Nordeste do Brasil, o angico (*Anadenanthera colubrina*) é a espécie preferida para o curtimento de peles de caprinos, enquanto que nas fazendas de gado da região Sudeste, o curtimento artesanal foi historicamente registrado utilizando-se, além do angico, o barbatimão e um produto extraído da árvore acácia-negra que já era comercializado com o nome de “tanino” (RIBEIRO, 2003).

Em larga escala comercial, a indústria de couros realiza o curtimento mineral, utilizando principalmente o cromo pela relativa rapidez

do processo de curtimento e pela qualidade conferida ao couro; porém, com indesejáveis consequências ambientais causadas pela poluição gerada pelos subprodutos desse processamento químico que contaminam o solo, águas superficiais e subterrâneas (PACHECO, 2005). Entretanto, mesmo não sendo usados em todas as etapas do moderno curtimento industrial, os taninos vegetais ainda são indispensáveis para produção de tipos especiais de couro. Esses taninos vegetais usados em larga escala mundialmente são oriundos de fontes renováveis, como dos plantios comerciais da árvore acácia-negra, cuja exploração apresenta baixo impacto ambiental e evita a exploração ilegal de outras fontes de taninos encontradas nas matas, cerrados e caatingas nativas.

### **Acácia-negra**

A acácia-negra (*Acacia mearnsii* De Wild) é uma árvore da família *Mimosaceae*, nativa do sudeste australiano. Essa planta foi introduzida em várias regiões tropicais e subtropicais do mundo e está sendo, atualmente, cultivada em larga escala no Quênia, na África do Sul, Zimbábue, Índia, China, Vietnã e Brasil. Ela é conhecida por “black wattle”, em inglês; por “acacia noir”, em francês; e por “muwati”, em “suahili”, língua falada em vários países da África Oriental (JANSEN; CARDON, 2005). Na língua portuguesa, a acácia-negra também é conhecida por mimosa.

A acácia-negra se destaca por ser a principal fonte de taninos de casca de árvores do mundo. No Brasil, seus plantios estão concentrados no Rio Grande do Sul onde existem mais de 100 mil hectares cultivados. A empresa Tanac é o maior plantador individual do mundo (Figura 4) com mais de 27.500 hectares cultivados, produz mais de 30 mil toneladas de extratos por ano e exporta para mais de 70 países (TANAC, 2012). Apesar de suas utilidades para recuperação de áreas degradadas e para fixação de nitrogênio ao solo,

os plantios de acácia-negra objetivam principalmente a produção de extratos de casca, ricos em taninos, e a utilização de madeira (GRIGOLETTI et al., 2003).



**Figura 4.** Plantio de acácia-negra no Rio Grande do Sul, Brasil (foto: Tanac)

As cascas de acácia-negra contêm cerca de 30-40% de taninos de alta qualidade especialmente apropriados para a indústria de couros. Os extratos de acácia-negra também são utilizados para tratamentos de água de abastecimento e de efluentes, e para fabricação de adesivos para madeiras (JANSEN; CARDON, 2005). Retirada a casca, a madeira é utilizada na preparação de cavacos (lascas) para a indústria de celulose. A madeira que não serve para preparação de cavacos é usada para fabricação de carvão e como lenha para caldeiras industriais, hotéis e restaurantes.

O teor de tanino de acácia-negra varia com a espessura da casca e com a idade da planta, concentrando-se mais na base do tronco do que nas partes mais altas e finas da árvore. A casca é retirada das árvores em longas tiras, que são secadas e cortadas em pequenos

pedaços e são expostos a vapores ou água fervente para extração líquida do tanino em grandes tinas metálicas conectadas em série e em recipientes onde a água é evaporada deixando apenas extratos na forma de pó que contêm cerca de 60 – 70% de taninos. No Brasil, os extratos de acácia-negra são chamados de extratos de mimosa e comercializados em diferentes composições que atribuem diversas qualidades ao couro curtido (Figura 5).



**Figura 5.** Extratos obtidos de acácia negra (*Acacia mearnsii*)

### **Atividades farmacológicas e biológicas dos taninos**

Muitas espécies de plantas medicinais contêm fenóis, quinonas, saponinas, flavonoides e terpenoides em quantidades apreciáveis para repelir insetos, além de prevenir a ocorrência de doenças de plantas (SILVA JÚNIOR; VIZZOTTO, 1996). Os compostos fenólicos desempenham importância fundamental na resistência das plantas ao ataque de fungos (AGRIOS, 1988). Dentre os compostos fenólicos importantes na resistência das plantas ao ataque de patógenos destacam-se os flavonoides e os taninos (ZUANAZZI, 2002).

Plantas ricas em taninos têm sido prescritas para o tratamento de diarreias, hipertensão, feridas, queimaduras, problemas renais, gástricos e inflamatórios. Testes *in vitro* têm identificado significantes atividades biológicas exibidas pelos polifenóis como ação bactericida, moluscicida, anti-helmíntica e anti-hepatotóxica, atividades antitumorais e inativação de enzimas.

Estudos de toxicidade em relação a microrganismos têm envolvido várias áreas de pesquisa como: farmacologia, nutrição e edafologia. Geralmente, a toxicidade dos taninos em experimentos de laboratório é estimada pela medida da redução do crescimento do micélio do fungo cultivado em placas de Petri, ou por métodos de contagem de colônias quando se investiga seu efeito tóxico sobre bactérias. Diversos substratos ricos em taninos conseguem inibir o desenvolvimento de bactérias pertencentes aos gêneros *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Nitrobacter*, *Staphylococcus* e *Streptococcus*, como também, inibir o crescimento de fungos pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Botrytis*, *Colletotrichum*, *Penicillium* e *Trichoderma* (SCALBERT, 1991).

### **Mecanismos de ação antimicrobiana dos taninos**

Os principais mecanismos da ação antimicrobiana dos taninos baseiam-se em sua capacidade de inibir enzimas, de modificar o metabolismo celular pela atuação nas membranas e de formar complexos com íons metálicos com conseqüente diminuição da disponibilidade desses para o metabolismo dos microrganismos (MELLO; SANTOS, 2002). A inativação de enzimas ocorre devido à capacidade dos polifenóis (taninos) de formarem complexos com proteínas e polissacarídeos. Essas reações bioquímicas descharacterizam as enzimas impedindo-as de serem aproveitadas nos processos normais de crescimento dos microrganismos (HASLAM, 1996).

A interação de taninos com membranas celulares de microrganismos e organelas celulares foi relatada por Scalbert (1991) citando a inibição da fosforilação oxidativa por mitocôndrias e a modificação na integridade de membranas na presença de ácido tanínico, sugerindo que tais mecanismos sejam responsáveis pelas suas propriedades bactericidas.

Além de se associarem a proteínas e polissacarídeos, os polifenóis têm a propriedade de formar complexos com íons metálicos como ferro, vanádio, magnésio, alumínio e cálcio. Por consequência da importância desses íons nos processos biológicos, principalmente do ferro, essas associações com polifenóis resultam em uma menor disponibilidade de íons para o metabolismo microbiano (HALLAM, 1996).

### **Cultura fitoterápica do povo brasileiro**

É comum encontrar nas cidades brasileiras cascas de árvores ricas em taninos como o angico, a aroeira, o cajueiro e o barbatimão sendo vendidas em feiras livres ou por vendedores ambulantes que usam as calçadas de grandes centros para expor uma diversidade de plantas medicinais que são tradicionalmente comercializadas e recomendadas pela medicina popular para tratamentos fitoterápicos de várias doenças (Figura 6).



**Figura 6.** Cascas de árvores vendidas em feira livre de Sapé, Paraíba, Brasil

A comprovação empírica pela população das propriedades medicinais de algumas cascas de árvores resulta na continuação da demanda comercial por essas plantas na maioria das feiras livres e mercados de pequenas cidades do interior do Brasil, indicando que as mesmas possuem substâncias terapêuticas eficientes que justificam suas indicações e recomendações na medicina popular. O fato das cascas de árvores medicinais possuírem efeito terapêutico sobre inflamações e infecções causadas no ser humano por bactérias e fungos originou a hipótese de que essas substâncias antifúngicas poderiam exercer influência antibiótica também em doenças de plantas causadas por fungos.

Assim, Carvalho et al. (2002), realizando experimentos na Estação Experimental do Abacaxi, pertencente à Emepa-PB, investigaram o efeito de extratos aquosos de cascas de árvores medicinais ricas em taninos como a aroeira, o cajueiro, o angico e o barbatimão sobre a incidência da fusariose do abacaxizeiro pérola. Os autores constataram uma redução significativa de 31,2% no tratamento testemunha para 7,6% no tratamento com aplicações de extratos aquosos da casca da árvore barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman*) em substituição a aplicação de fungicidas químicos.

Apesar da constatação científica da eficiência de extratos aquosos de cascas de árvores ricas em taninos no controle da fusariose do abacaxizeiro, essa tecnologia possuía impedimentos ecológicos e logísticos de utilização imediata, pois seriam necessárias milhares de árvores para o fornecimento de taninos em quantidades suficientes para atender a abacaxicultura nacional. Além disso, a legislação ambiental brasileira impede a extração de cascas de árvores de áreas protegidas. Assim, procurou-se outra fonte de tanino vegetal para testes em experimentos fitopatológicos. A alternativa surgiu exatamente com os taninos extraídos de plantios comerciais de acácia-negra. Porém, esses taninos são produzidos para a indústria de couros e tratamento de água. Sua utilização na agronomia ainda não havia sido relatada, especificamente na área de doenças de plantas, em experimentos de campo, como uma alternativa para os fungicidas químicos, até 2001, quando foram solicitadas à empresa Tanac as primeiras amostras de taninos em pó para testes laboratoriais contra *Fusarium*.

### **Efeito de taninos de acácia-negra sobre o crescimento *in vitro* do fungo *Fusarium subglutinans***

Por meio de experimentos laboratoriais realizados na Estação Experimental de Abacaxi, pertencente à Emepa-PB, Carvalho et al. (2002), investigaram o efeito de produtos comerciais ricos em taninos de acácia-negra, cedidos pela empresa Tanac, sobre o crescimento do *Fusarium* cultivado em meio de cultura batata-dextrose-carragena e observaram reduções significativas do crescimento micelial do fungo quando ao meio de cultura foi adicionado tanino na concentração de 5%. Os mesmos autores constataram que não houve diferença de eficiência entre os produtos comerciais ricos em taninos de acácia-negra. Foram testados os produtos Weibull, Clarotan, Retan e Supertan, contendo 72, 70, 74 e 70% de tanan-

tes (substâncias ricas em taninos), respectivamente, e todos esses produtos reduziram eficientemente o crescimento do *Fusarium* em meio de cultura, quando comparado ao tratamento testemunha (Tabela 1 e Figura 7).

**Tabela 1.** Efeito de fontes de taninos sobre o crescimento de *Fusarium subglutinans* em meio de cultura batata-dextrose-carragena.

Tratamento	Diâmetro da colônia após 7 dias (cm)
Testemunha	7,00 a
Clarotan (5%)	2,16 b--
Supertan (5%)	2,18 b
Weibull (5%)	1,75 b
Retan (5%)	2,22 b

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade



**Figura 7.** Crescimento de *Fusarium subglutinans* inibido por extrato de acácia-negra (produto comercial Weibull) a 5%.

Carvalho et al. (2002) também investigaram o efeito de concentrações do produto comercial Weibull (taninos de acácia-negra) sobre

o crescimento de *F. subglutinans* em meio de cultura batata-dextrose-carragena e verificaram reduções significativas do crescimento micelial do fungo à medida que a concentração de tanino foi aumentada no meio de cultura (Tabela 2).

**Tabela 2.** Efeito de concentrações de extrato de acácia-negra (produto comercial Weibull) sobre o crescimento de *Fusarium subglutinans* em meio de cultura batata-dextrose-carragena.

Tratamento	Diâmetro da colônia após 7 dias (cm)
Testemunha	6,27 a
1%	4,80 b
2%	3,98 c
3%	3,47 d
4%	2,88 e
5%	2,25 f
6%	2,15 f
7%	1,55 g

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

### **Efeito de taninos de acácia-negra sobre a incidência da fusariose em abacaxizeiro cultivar Pérola em condições de campo**

Após a constatação da redução do crescimento micelial do fungo causador da fusariose em meio de cultura, Carvalho et al. (2002) realizaram experimentos de campo na Estação Experimental do Abacaxi, pertencente à Emepa, PB, e constataram uma redução da incidência da fusariose do abacaxizeiro de 25,77% no tratamento testemunha para 8,62% no tratamento com taninos de acácia-negra, produto comercial Weibull (Tabela 3).

O tanino Clarotan reduziu a incidência da fusariose para menos de 4%, mas esse mérito não pode ser atribuído exclusivamente ao tanino da acácia-negra, visto que esse produto comercial é tratado com enxofre para produzir um curtimento mais claro das peles. O sinergismo do enxofre com os taninos pode ter favorecido a maior eficiência desse produto em comparação com o tanino Weibull que é totalmente natural e não recebe nenhum aditivo químico. Apesar da eficiência dos taninos de acácia-negra na redução da fusariose do abacaxizeiro em condições de campo, foi observado que os frutos, na época da maturação, tratados com taninos na formulação em pó apresentaram resíduos desse pó nos vestígios florais, produzindo um aspecto envelhecido na casca do abacaxi.

**Tabela 3.** Incidência da fusariose do abacaxizeiro por tratamentos em experimentos de campo.

Tratamento	Incidência (%)
Testemunha	25,77% a
Barbatimão (uma aplicação semanal)	9,73% ab
Barbatimão (duas aplicações semanais)	8,42% ab
Angico (uma aplicação semanal)	15,65% ab
Angico (duas aplicações semanais)	12,11% ab
Tanino Clarotan (uma aplicação semanal)	3,32% b
Tanino Clarotan (duas aplicações semanais)	3,95% b
Tanino Weibull (uma aplicação semanal)	9,43% ab
Tanino Weibull (duas aplicações semanais)	8,62% ab

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Tentando solucionar esse problema, Carvalho (2008) realizou um experimento em condições de campo em propriedade de produtor rural localizada no município de Santa Rita, PB, para testar o efei-

to de taninos líquidos de acácia-negra no controle da fusariose do abacaxizeiro para verificar se os indesejáveis resíduos de taninos permaneceriam nos vestígios florais encontrados na casca do abacaxi. Houve diferenças significativas entre os produtos alternativos testados e o tratamento controle. Não houve diferença significativa entre o efeito do tanino em pó e do tanino líquido, porém no tratamento do tanino líquido ocorreu menor incidência da fusariose do abacaxizeiro (Tabela 4). O tanino líquido não deixou resíduos semelhantes àqueles deixados pelo tanino na formulação em pó; porém, assim como com o tanino em pó, alterou ligeiramente a coloração da casca, deixando-a levemente bronzeada, com a coloração típica dos taninos. Este bronzeamento fica restrito à casca, sem alterar a coloração interna da polpa do fruto.

**Tabela 4.** Efeito de produtos alternativos no controle da fusariose do abacaxizeiro Pérola em condições de campo.

Tratamento	Incidência da fusariose (%)
Controle	21,0 a
Tanino em pó a 5%	9,1 b
Tanino líquido a 5%	7,1 b
Tanino líquido extra light a 5%	12,1 b
Extrato cítrico a 5%	9,7 b
Cloro a 0,5%	8,0 b

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Tendo sido comprovada a eficiência de taninos de acácia-negra na redução da incidência da fusariose do abacaxizeiro na cultivar Pérola, a mais cultivada no Brasil, restava ainda investigar a eficiência desses taninos no controle da fusariose do abacaxizeiro na cultivar MD2 (Figura 8), a mais cultivada no mundo, porém altamente suscetível ao ataque de *Fusarium subglutinans*. Esse trabalho foi

executado em campos comerciais de abacaxi MD2, destinados à exportação, localizados no município de Mundo Novo, BA e pertencentes à empresa comercial Agrivale. Os cultivos foram realizados sob pivô de irrigação que fornecia umidade constante. Esta umidade associada a elevadas temperaturas diurnas e a temperaturas noturnas amenas, típicas da região semiárida, proporcionaram condições favoráveis para o desenvolvimento de uma epidemia de fusariose do abacaxizeiro.



**Figura 8.** Plantas e frutos de abacaxizeiro MD2

Carvalho et al. (2010) realizaram experimentos de controle alternativo para combater a fusariose nesses campos de abacaxi MD2 utilizando taninos de acácia-negra e obtiveram significativa redução da incidência da fusariose de 72,7% no tratamento testemunha para até 22,1 % no tratamento com taninos de acácia-negra (Tabela 5; Figuras 9 e 10). Não houve diferença estatística entre o efeito de doses ou número de aplicações semanais de taninos, mas houve diferenças entre a incidência da fusariose no tratamento testemu-

nha e em todos os tratamentos com taninos de acácia-negra (Tabela 5), comprovando, assim, a eficiência dos taninos em reduzir a incidência da fusariose, mesmo sob condições tão propícias ao desenvolvimento da doença, como o cultivo de uma variedade de abacaxizeiro suscetível, desenvolvido em região semiárida sob irrigação de pivô central.

**Tabela 5.** Efeito de concentrações e de número de aplicações de taninos de acácia-negra sobre a incidência da fusariose em abacaxizeiro MD2 sob condições de campo.

Tratamento	Incidência (%)
Controle	72,7 a
Fungicida (tiofanato metílico)	19,9 b
Tanino 5% (uma aplicação por semana)	22,1 b
Tanino 5% (duas aplicações por semana)	28,1 b
Tanino 6% (uma aplicação por semana)	27,5 b
Tanino 6% (duas aplicações por semana)	25,4 b
Tanino 7% (uma aplicação por semana)	24,5 b
Tanino 7% (duas aplicações por semana)	22,3 b

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Como era de se esperar, o melhor controle foi proporcionado com o tratamento fungicida. Entretanto, é relevante observar que não houve diferença estatística entre esse tratamento fungicida e os tratamentos com taninos (Tabela 5). Em alguns tratamentos com taninos, a incidência da fusariose foi apenas um pouco maior do que aquela obtida no tratamento com o fungicida tiofanato metílico usado como comparação, indicando que os taninos de acácia-negra podem proporcionar resultados de controle semelhantes àqueles de fungicidas químicos tradicionais.



**Figura 9.** Frutos atacados pela fusariose na parcela testemunha do experimento para avaliar o efeito de concentrações e de número de aplicações de taninos de acácia-negra sobre a incidência da doença em abacaxizeiro MD2 sob condições de campo.



**Figura 10.** Frutos com fusariose em parcela tratada com taninos de acácia-negra no experimento para avaliar o efeito de concentrações e de número de aplicações de taninos de acácia-negra sobre a incidência da fusariose em abacaxizeiro MD2 sob condições de campo.

## Considerações finais

Os taninos de acácia-negra reduziram significativamente a incidência da fusariose, tanto em abacaxizeiro cultivar Pérola, conduzido em condições de sequeiro, como em abacaxizeiro cultivar MD2, conduzido sob irrigação com pivô central, constituindo-se numa alternativa natural à utilização de fungicidas químicos. Esses taninos são originados de fontes renováveis e são produzidos no Brasil em quantidades que permitem sua exportação para muitos países. Eles também podem ser facilmente adquiridos como produtos comerciais já disponíveis no mercado em diversas formulações e teores, na forma líquida ou em pó, permitindo ao produtor rural a obtenção de taninos concentrados cujas utilizações podem ser adaptadas para objetivos fitossanitários, sem os riscos ambientais característicos dos agrotóxicos.

É interessante notar que os taninos desempenham, originalmente, uma função de defesa das plantas contra herbívoros, pragas e fungos. No entanto, por milhares de anos, eles têm sido utilizados em curtumes no processo de transformação da pele de animais em couro. Sua utilização pelo homem como um instrumento de defesa das plantas cultivadas permaneceu ignorada durante todo esse período. Mesmo com o advento da modernização dos curtumes industriais e das técnicas de extração de taninos, bem como da diversificação de sua utilização em outros processos como fabricação de adesivos e tratamento de água, a possibilidade de sua utilização como um fungicida natural não havia despertado a curiosidade do meio científico.

Assim, em tempos de agricultura orgânica e sustentabilidade, é gratificante contribuir cientificamente para o reconhecimento da funcionalidade original dos taninos como uma alternativa natural de defesa das plantas. Essa tecnologia pode ser empregada não

apenas no manejo integrado de doenças do abacaxizeiro, como também, potencialmente, após confirmação por pesquisas agrônômicas semelhantes, no manejo ecológico de doenças fúngicas de outras culturas agrícolas.

## Referências

AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. New York: Academic Press, 1988. 803 p.

CARVALHO, R. A. Control of pineapple fusariosis with liquid tannins of *Acacia mearnsii*. In: **Phytopathology**, St. Paul, v. 98, n. 6, p. S31, 2008. Suplemento. Edition of the Proceedings of the American Phytopathological Society Congress, 100., 2008, Minneapolis, USA.

CARVALHO, R. A.; CHOAIRY, S. A.; OLIVEIRA, E. F. de; LACERDA, J. T. de; BARREIRO NETO, M.; SANTOS, E. S. dos. **Controle da fusariose do abacaxizeiro com taninos e vitaminas**. João Pessoa: EMEPA, 2002. 28 p. (Boletim de Pesquisa, 11).

CARVALHO, R. A.; OLIVEIRA, E. F. de; LACERDA, J. T. de; BARREIRO NETO, M.; DUARTE, P. de T. de M.; FIGUEIREDO, R. de. Alternative control of pineapple fusariosis on irrigated MD2 cultivar in Brazil. In: INTERNATIONAL PINEAPPLE SYMPOSIUM, 7., 2010, Johor Bahur, Malaysia. **Souvenir programme...** Johor Bahur, Malaysia, 2010. p. 32.

DINIZ, M. de F. F.; OLIVEIRA, R. A. G. de; MEDEIROS, A. C. D. de; MALTA JÚNIOR, A. **Memento fitoterápico: as plantas como alternativa terapêutica: conhecimentos populares e científicos**. João Pessoa: Editora Universitária UFPB, 1997. 205 p.

EDAGI, F. K.; KLUGE, R. A. Remoção de adstringência de caqui (*Diospyros kaki* L.): um enfoque bioquímico, fisiológico e tecnológico. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 2, p. 585-594, 2009.

GRIGOLETTI, A.; SANTOS, A. F. dos; HIGA, A. R.; MORA, A. L.; SIMON, A. A.; AUER, C. G.; IEDE, E. T.; CURCIO, G. R.; RODIGHIERI, H. R.; DEDEREK, R. A.; HIGA, R. C. V.; KEIL, S. S.; PENTEADO, S. do R. C. Cultivo da acácia-negra. Colombo: Embrapa Florestas, 2003. (Embrapa Florestas. Sistemas de produção, 3). Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/AcaciaNegra/CultivodaAcaciaNegra/index.htm>>. Acesso em: 20 mar. 2012.

HASLAM, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 59, n. 2, p. 205-215, 1996.

JANSEN, P. C. M.; CARDON, D. (Ed.). **Plant resources of tropical Africa 3: dyes and tannins**. Wageningen: PROTA Foundation, 2005. 216 p.

MATOS, A. P. de. Doenças e seu controle. In: CUNHA, G. A. P.; CABRAL, J. R. S.; SOUZA, L. F. S. (Ed.). **O abacaxizeiro: cultivo, agroindústria e economia**. Brasília, DF: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999. 480 p.

MATOS, A. P. de (Org.). **Abacaxi: fitossanidade**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. 77 p.

MELLO, C. P. de; SANTOS, S. da C. **Taninos**. In: FARMACOGNOSIA: da planta ao medicamento. 4. ed. rev. ampl. Porto Alegre: Ed. da UFRGS; Florianópolis: Ed. da UFSC, 2002. 821 p.

OXFORD dictionaries. Disponível em: <<http://oxforddictionaries.com/definition/tan?q=tan>>. Acesso em: 20 mar. 2012.

PACHECO, J. W. F. **Curtimes**. São Paulo: CETESB, 2005. 76 p.

PINTO, C. M. F.; PEREIRA, J. M.; PAULA JÚNIOR, T. J. de. Agricultura alternativa no contexto mundial. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 22, n. 212, p. 80-83, 2001.

PLANTS poisonous to livestock - tannins: fascinating but sometimes dangerous molecules. Ithaca: Cornell University, 2012. Disponível em: <<http://www.ansci.cornell.edu/plants/toxiagents/tannin.html#def>> Acesso em: 20 mar. 2012.

RIBEIRO, E. M. **A arte do couro e o ofício do gado na fazenda mineira**. 2003. Disponível em: <[http://www.mao.org.br/fotos/pdf/biblioteca/ribeiro\\_01.pdf](http://www.mao.org.br/fotos/pdf/biblioteca/ribeiro_01.pdf)>. Acesso em: 26 set.2006

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, Oxford, v. 30, n. 12, p. 3875-3883, 1991.

SILVA JÚNIOR, A. A.; VIZZOTTO, V. J. Plantas medicinais, aromáticas e fitoprotetoras. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 9, n. 1, p. 5-8, 1996.

TANAC. Unidade Taninos. Montenegro, Brasil, 2012. Disponível em: <<http://www.tanac.com.br/pt-br/unidades/taninos>>. Acesso em: 20 mar. 2012.

ZUANAZZI, J. A. S. **Flavonóides**. In: FARMACOGNOSIA: da planta ao medicamento. 4. ed. rev. ampl. Porto Alegre: Ed. da UFRGS; Florianópolis: Ed. da UFSC, 2002. 821 p.

## Controle Biológico de Doenças em Pós-Colheita

Silvana Vero, Gabriela Garmendia, Marcela Sangorrín e Marisol Vargas

---

### **Pós-colheita: características e problemas**

A pós-colheita de produtos agrícolas é caracterizada por um conjunto de processos integrados e sequenciais, pelos quais passam os produtos depois da colheita, durante as etapas que os mesmos chegam aos consumidores e que se encontram estreitamente vinculados aos sistemas de produção. Pós-colheita é o período que transcorre desde o momento em que os produtos são recolhidos no campo até aquele no qual são consumidos em estado fresco, preparados ou transformados industrialmente. Esse período é muito variável e depende de diversos fatores intrínsecos (espécie, variedade e características físico-químicas) e extrínsecos (consumo, meio de transporte e condições ambientais) a cada produto.

Os produtos hortícolas e frutícolas normalmente requerem um determinado armazenamento com a finalidade de equilibrar a sua oferta e a sua procura. A vida de armazenamento potencial se encontra pré-determinada, em grande parte, pelas características genéticas e metabólicas do produto. Sem dúvida, os fatores de pré-colheita, as técnicas de manejo, o momento da colheita, os tratamentos pós-colheita e as condições de armazenamento são os fatores que determinam a capacidade real de armazenamento.

De acordo com o manejo, algumas frutas podem apresentar uma vida de armazenamento prolongada de vários meses, como é o caso das maçãs e peras (KUPFERMAN, 1997). Outros produtos, ao contrário, tem um período muito curto de armazenamento que vai de dias até uma semana, como por exemplo, framboesas e morango (KARABULUT et al., 2004). Entretanto, a maioria tem uma vida de armazenamento intermediária entre esses dois extremos. Somente por meio de um rigoroso controle de temperatura, umidade e atmosfera durante o armazenamento é que se pode obter um produto de boa qualidade ao final do período. Esses parâmetros influenciam a maturação e o aparecimento de possíveis fisiopatias e doenças que ocasionam perdas do produto armazenado. Também é importante uma adequada limpeza e desinfecção nos lugares de armazenamento, de forma a diminuir os riscos da chegada de patógenos na fruta.

Apesar de maximizar esforços para reduzir a suscetibilidade dos frutos e também minimizar as fontes possíveis de entrada de patógenos antes, durante e depois da colheita, as perdas em pós-colheita, em muitos casos, seguem sendo significativas. A estimativa de perdas totais (devido a fatores bióticos e abióticos) em pós-colheita de frutas e verduras indicam que podem chegar até 25% (EL-GHAOUTH et al., 2002).

Parte dessas perdas se devem às infecções com patógenos fúngicos. As infecções fúngicas, cujos sintomas se manifestam durante o armazenamento pós-colheita, podem ocorrer entre a floração e a maturação do fruto ou, posteriormente, durante a colheita e o armazenamento. No primeiro caso, as infecções podem permanecer quiescentes até que se inicie a senescência do fruto durante o armazenamento, sendo muito difícil de controlar o surgimento dos sintomas mediante técnicas de manejo em pós-colheita. No segundo caso, é possível maximizar os esforços durante e depois do recolhimento para evitar o surgimento de podridões, as quais são

causadas, muitas vezes, por patógenos de fermento. É por isso que é de vital importância minimizar o número de ferimentos provocados durante a colheita e tomar medidas para diminuir o inóculo inicial de patógenos.

O controle de doenças de pós-colheita é baseado, tradicionalmente, na aplicação de fungicidas químicos, antes do armazenamento, por meio de banhos, aspersão ou por incorporação em ceras. Atualmente, é reduzido o número de princípios ativos autorizados para uso nessa etapa, devido, principalmente, às considerações toxicológicas. Isso tem gerado dificuldades na hora de instrumentar estratégias de manejo contra resistência, já que estas estratégias se baseiam na alternância ou rotação de princípios ativos com diferentes modos de ação (BRENT; HOLLIMON, 2007). Como consequência, tem-se constatado a presença de populações de patógenos resistentes aos fungicidas mais comumente utilizados (ESTERIO et al., 2007; GEPP et al., 2011; WOZNIAK, 2003). Por outro lado, o uso de fungicidas, especialmente nessa etapa próxima do consumo, está sendo muito questionado pela sociedade, na qual se tem incrementada a consciência sobre os riscos à saúde e ao ambiente.

Um novo conceito de qualidade tem surgido. Os consumidores já não se fixam somente na estética do produto, mas também exigem que este esteja livre dos resíduos tóxicos e que também tenha sido produzido seguindo práticas sustentáveis que respeitem o ambiente.

### **Controle biológico em pós-colheita**

Para responder às demandas mencionadas, desenvolveram-se programas de Produção Integrada (PI) e de Boas Práticas Agrícolas (BPA) em diferentes países. Esses Programas, mediante a integração dos agricultores com os serviços de extensão e com centros

de pesquisa, vêm implementando a produção comercial de frutas e hortaliças de alta qualidade, minimizando, assim, o uso de agrotóxicos e seus efeitos secundários (GIACINTI, 2003; MONDINO et al., 2003; NÚÑEZ et al., 2003). Nesse contexto, na etapa de pós-colheita o controle biológico tem se mostrado uma alternativa promissora, tendo sido desenvolvida em diversos locais do mundo (DROBY et al., 2009; SHARMA et al., 2009; WISNIEWSKI et al., 2007).

O controle biológico pode ser definido, em sentido amplo, segundo Cook e Baker (1983), como a redução da densidade de inóculo ou das atividades produtoras de doença de um patógeno mediante um ou mais organismos, na forma natural ou através da manipulação do ambiente, do hospedeiro ou de antagonista; ou pela introdução em massa de um ou mais antagonistas que atuam como agentes de biocontrole. Numa forma mais reduzida, o controle biológico é considerado como o controle do crescimento de uma população por ação de um ou mais antagonistas (PIMENTA, 2009).

O conceito de controle biológico é totalmente compatível com o de agricultura sustentável, pois se baseia no uso de recursos naturais para obter uma produção agrícola com reduzido impacto ambiental (SPADARO; GULLINO, 2004).

Em geral, quando se discute controle biológico tem-se como referência o uso de microrganismos benéficos (antagonistas) com a finalidade de reduzir os efeitos indesejáveis dos patógenos de plantas. Na maioria dos casos, trata-se de microrganismos que normalmente se encontram associados ao vegetal e que são selecionados e multiplicados em maiores concentrações, sendo aplicados em momentos oportunos para que exerçam a sua ação antagônica.

A pós-colheita apresenta características favoráveis à implementação de medidas de controle biológico. Em primeiro lugar, o ambiente da pós-colheita se caracteriza por ser confinado e controlado facilitando as aplicações dos agentes de controle biológico

e a manutenção destes devido a condições ambientais fixas. Em segundo lugar, o alto valor agregado dos produtos colhidos justifica a implementação de medidas de controle que em outras circunstâncias poderiam não ser rentáveis. Ademais, na maioria dos casos, a aplicação dos agentes de controle biológico se realiza utilizando equipamentos e tecnologias iguais ou similares aos usados para a aplicação de fungicidas; portanto, as alterações nas instalações das plantas de tratamento em pós-colheita não seriam drásticas nem economicamente excessivas.

### **Microrganismos utilizados como agentes de biocontrole em pós-colheita: características e seleção**

Vários tipos de microrganismos têm demonstrado ser efetivos no controle de patógenos na etapa de pós-colheita. Os antagonistas mais amplamente utilizados nessa etapa têm sido as leveduras (DROBY et al., 2009). Entretanto, existem vários exemplos de sucesso utilizando bactérias e fungos filamentosos (ARREBOLA et al., 2010; GOVENDER et al., 2005; HUANG et al., 1993; MARI et al., 1996).

As principais características que necessitam se reunir em um agente de biocontrole para uso em pós-colheita são detalhados por Wisniewski et al. (2007) e apresentados a seguir:

- » estabilidade genética;
- » efetividade a baixas concentrações;
- » não ser exigentes quanto aos requerimentos nutricionais;
- » habilidade de sobreviver a condições ambientais adversas;
- » efetividade frente a um grande número de patógenos em diversas frutas e verduras;

- » capacidade de reprodução em meios de cultura de baixo custo;
- » resistência aos produtos químicos utilizados em pós-colheita;
- » inocuidade para a saúde humana e animal;
- » compatibilidade com outros tratamentos e processamentos realizados em pós-colheita;
- » não ser patógeno para os vegetais.

Em geral, como agentes de controle biológico, têm sido selecionados microrganismos encontrados naturalmente sobre a superfície dos vegetais que se pretende proteger. Entretanto, existem exemplos de microrganismos que com boa ação como agentes de biocontrole sobre um vegetal foram isolados de outra espécie. Esse é o caso da levedura *Cystofilobasidium infirmominiatum* isolada de laranjas armazenadas no frio, que resultou em bom antagonista de patógenos pós-colheita, não somente para laranjas, mas também para maçãs armazenadas (VERO et al., 2011). Também, vários produtos comerciais desenvolvidos para um patossistema têm sido aplicados em outros, sendo recomendados para o controle de vários fitopatógenos de diversos produtos.

O isolamento e a seleção de agentes de biocontrole é fundamental na busca de determinado tipo de antagonistas. O local e o método de isolamento são fundamentais para o sucesso dessa etapa. O método de isolamento deve ser seletivo de forma que permita obter somente potenciais agentes de biocontrole. Dessa forma, se reduz o número de isolados a serem testados para a seleção sobre o fruto, fase que é muito mais trabalhosa e exige mais recursos para a sua realização.

Diferentes estratégias para o isolamento de antagonistas destinados ao biocontrole em pós-colheita tem sido utilizadas com base na capacidade de crescer nos locais onde necessita agir (como exem-

plo, fermentos dos frutos), bem como em condições de armazenamento (por exemplo, baixa temperatura). Dessa forma, na busca por antagonistas para o controle de patógenos de fermentos de maçã durante o armazenamento pós-colheita (0-1°C), Vero et al. (2009) isolaram microrganismos da superfície de maçãs sadias que foram armazenadas por vários meses a 0°C. O isolamento foi realizado em meio de suco de maçã-ágar, sendo a incubação a baixas temperaturas. Desse modo foram obtidos somente microrganismos com capacidade de crescer em suco de maçã e em condições de baixa temperatura. Assim, aumentava a probabilidade de que os antagonistas isolados apresentassem boas características para colonizar tecidos feridos de maçã durante o armazenamento em pós-colheita. Da mesma forma, Hernández Montiel et al. (2010) utilizaram a capacidade de crescimento em dois meios de cultivo à base de albedo e flavedo de limão mexicano para a seleção de possíveis antagonistas de *Penicillium italicum* para tratamento em pós-colheita. Robiglio et al. (2011) também foram bem sucedidos em buscar antagonistas de *P. expansum* em peras, isolando microrganismos presentes em feridas sadias de frutas armazenadas em câmara fria. Nesses três casos, os estudos de seleção foram limitados a microrganismos identificados como bons colonizadores de tecidos feridos, característica primordial para um agente de biocontrole de patógenos que utilizam essa via de infecção.

Existem outras características importantes para um agente de biocontrole de doenças de pós-colheita que podem ser utilizadas em uma seleção antes dos ensaios *in situ*. Uma delas é a incapacidade de crescimento a 37°C, pois se crescer a essa temperatura o antagonista deve ser descartado, haja vista que apresentaria capacidade de colonizar o corpo humano e, portanto, causar doenças no homem. Outras características importantes incluem a capacidade de crescer em determinada atmosfera, principalmente se consi-

derar aplicar o antagonista em frutos armazenados em atmosfera controlada; também a resistência ou insensibilidade a determinados fungicidas ou a outros produtos associados ao tratamento pós-colheita para utilizar a estratégia de controle integrado. Além disso, a capacidade de formação de bio-películas por parte dos antagonistas é uma propriedade que favorece a colonização e a resistência frente a agentes antimicrobianos e diferentes tipos de estresse. Finalmente, postula-se que o antagonista apresente como modo de ação a competição por espaço ou nutrientes (DROBY et al., 2009).

## **Microrganismos utilizados como controladores biológicos de doença em pós-colheita**

### **Leveduras**

Como discutido anteriormente os microrganismos mais comumente utilizados como controladores biológicos em pós-colheita tem sido as leveduras.

Como exemplos de leveduras para o controle biológico de patógenos pós-colheita cita-se cepas de *Aureobasidium pullulans* (IPPOLITO et al., 2000; VERO et al., 2009), *Candida sake* (VIÑAS et al., 1998), *Candida oleophila* (DROBY et al., 2002) e *Metschnikowia pulcherrina* (KIM et al., 1997; SPADARO et al., 2002), entre outras, as quais tem demonstrado efetividade sobre patógenos de maçã. A levedura *Metschnikowia fructicola*, descrita por Kurtzman e Droby (2001), foi caracterizada como antagonista de *Botrytis cinerea* durante o armazenamento pós-colheita de uva. Em seguida, Karabulut et al. (2004) demonstraram a eficácia desta levedura para o controle de doenças em pós-colheita de morango.

As leveduras também têm sido efetivas no controle de patógenos de citros durante a etapa de pós-colheita. Entre outras cita-se *Debaryomyces hansenii* (HERNÁNDEZ-MONTIEL et al., 2010) e *Cystifilobasidium infirmominiatum* (VERO et al., 2011), para o controle de *P. italicum* em limão mexicano e laranja, respectivamente, e *Cryptococcus laurentii* para o controle de podridão-amarga causada por *Geotrichum citri-aurantii* (LIU et al., 2010).

Para o controle de patógenos de pera, leveduras têm sido utilizadas também. Um exemplo recente é o trabalho desenvolvido por Robiglio et al. (2011) no qual descreve a seleção de cepas identificadas como *Aureobasidium pullulans* e *Rhodotorula mucilaginosa* como antagonistas de *P. expansum* e *B. cinerea* durante o armazenamento pós-colheita.

## Bactérias

Bactérias de vários gêneros são descritas como controladoras de patógenos em pós-colheita. Por exemplo, duas cepas de *Pantoea agglomerans* foram identificadas como bons agentes de biocontrole. A cepa *P. agglomerans* CPA-2 tem se mostrado efetiva no controle de *P. expansum*, *B. cinerea* e *Rhizopus stolonifer* em maçãs e peras (NUNES et al., 2002) e no controle de *Penicillium digitatum* em citros (PLAZA et al., 2004). Bonaterra et al. (2003) comprovaram que a cepa de *Panthoea agglomerans* EPS125 atuava no controle de podridão em pós-colheita causada por *Monilinia laxa* e *Rhizopus stolonifer* em frutas de caroço.

Outras bactérias, tais como *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas cepacia* (JANISIEWICZ; KÖRSTEN, 2002) e *Rahnella aquatilis* (CALVO et al., 2007) são também descritas para o controle de patógenos durante a pós-colheita de maçãs.

Para o controle da podridão-seca em batata causada por *Gibberella pulicaris* durante o armazenamento pós-colheita foram selecionadas bactérias identificadas como *Pseudomonas fluorescens* (SCHISLER et al., 2000). Outras cepas da mesma espécie também têm sido descritas como bons antagonistas de mofo-azul e mofo-cinzento em maçãs colhidas (ETEBARIAN et al., 2005).

### **Fungos filamentosos como controladores biológicos**

Embora a maioria dos trabalhos envolveram a seleção de bactérias e leveduras como biocontroladores de patógenos em pós-colheita, existem também alguns exemplos que demonstram a capacidade de fungos do gênero *Trichoderma* como agentes de biocontrole em pós-colheita. Por exemplo, Okigbo e Ikediugwu (2000) constataram que uma cepa de *Trichoderma viride* era um efetivo agente de biocontrole para *Dioscorea* spp. em mandioca. Por sua vez, Batta (2004) descreve uma formulação baseada em uma cepa de *Trichoderma harzianum* para o controle de *B. cinerea* em maçãs.

*Muscodor albus*, um fungo endofítico produtor de substâncias antimicrobianas voláteis capazes de inibir o crescimento de vários fungos e bactérias (STROBEL et al., 2001), também tem sido utilizado em estudos de controle biológico em pós-colheita. Vários trabalhos demonstraram sua capacidade de controlar a podridão-parada do pessegueiro, o bolor-azul e mofo-cinzento em maçãs (MERCIER, JIMÉNEZ, 2004) e a podridão-amarga em citrus (MERCIER; SMILANICK, 2005). Por sua vez, demonstrou sua efetividade no controle de *B. cinerea* em pós-colheita de uvas, mesmo depois de estabelecida a infecção a partir de ferimentos (GABLER et al., 2006). Neste caso, o agente de biocontrole não se aplica diretamente sobre a fruta, já que, somente é necessário que os compostos antimicrobianos voláteis produzidos pelo biocontrolador entrem em contato com o patógeno. Neste sentido, Gabler et al. (2006) em

seus ensaios, colocaram culturas reidratadas de *Muscodor albus* sobre as embalagens da fruta sem tomar contato com a mesma. Atualmente, outras espécies deste gênero estão sendo estudadas, determinando-se a capacidade destas em produzir compostos voláteis com atividade antimicrobiana e seu potencial de aplicação contra fitopatógenos (MACÍAS-RUBALCAVA et al., 2010).

### **Especificidade e efetividade dos antagonistas utilizados no controle biológico pós-colheita**

Os exemplos anteriores mostram diversos estudos que têm encontrado, tanto no caso de bactérias como de leveduras, diferentes cepas biocontroladoras pertencentes a uma mesma espécie, atuando em patossistemas diferentes. Por exemplo, Spotts et al. (2009) citam a capacidade de cepas da levedura *Cystofilobasidium infirmominiatum* como controladores biológicos de enfermidades pós-colheita causadas por *P. expansum* e *M. fructicola* em cerejas, enquanto que Vero et al. (2011) encontraram uma cepa desta mesma espécie capaz de controlar *P. italicum* em laranjas armazenadas a 5°C. Entretanto, tem-se demonstrado que nem todas as cepas de uma determinada espécie apresentam o mesmo potencial como biocontroladoras. Neste sentido, Schena et al. (1999) e Vero et al. (2009) demonstraram que diferentes cepas de *A. pullulans* teriam diferente atividade biocontroladora de *B. cinerea* e *P. expansum* em maçã. Por sua vez, Janisiewicz et al. (2001) encontraram diferente atividade para distintas cepas de *M. pulcherrima*. Desses estudos se deduz que a capacidade biocontroladora é uma característica dependente da cepa utilizada. É impossível assegurar que um isolamento de uma espécie a que pertencem cepas com reconhecida capacidade biocontroladora seja um bom antagonista.

A maioria dos trabalhos mencionados trata do uso de microrganismos antagonistas para o controle de patógenos pós-colheita que

infectam através de feridas. Em quase todos os casos, a porcentagem de proteção é alta, chegando-se quase sempre a valores maiores que 85%. Entretanto, é importante destacar que, em geral, trata-se de uma proteção preventiva, ou seja, para antagonistas que são capazes de impedir a infecção sempre e quando chegam ao ferimento, antes ou ao mesmo tempo que o patógeno. Em vários trabalhos realizaram-se experimentos confrontando, sobre a fruta, antagonistas e patógenos em diferentes momentos. Os resultados foram contundentes: não houve proteção se a chegada do patógeno ao ferimento era prévia à do antagonista. Portanto, no momento de se desenhar estratégias de controle, deve-se recordar que o controle biológico em pós-colheita, na grande maioria dos casos, não é curativo, mas sim preventivo. (FAN; TIAN, 2001; OKIGBO; IKEDIUGWU, 2000; ZHANG et al., 2005; ZHENG et al., 2004).

Contudo, existem exemplos onde se tem verificado controle aplicando o antagonista logo após a infecção pelo patógeno. Este é o caso do biocontrole exercido pelos compostos voláteis produzidos pelo fungo *Muscodor albus*. Gabler et al. (2006) constataram efetividade no controle da enfermidade aplicando o agente de biocontrole até 24 horas depois de haver infectado feridas em uva com *B. cinerea*.

### **Formulações comerciais**

Na atualidade existem algumas formulações comerciais baseadas em microrganismos biocontroladores para uso em pós-colheita. Biosave™ (Ecoscience, EEUU) cujo ingrediente ativo são bactérias identificadas como *Pseudomonas syringae*, é o produto comercial vigente com maior tempo no mercado. O produto foi registrado nos EUA e é usado principalmente para enfermidades pós-colheita de batata doce, batata e maçã (DROBY et al., 2009). Atualmente, outros produtos presentes no mercado são o Shemer™ e o Boniprotect™,

baseados em uma cepa de *M. fructicola* e *A. pullulans*, respectivamente. Shemer™, que será produzido a partir deste ano pela Bayer CropScience, foi desenvolvido primeiramente pela AgroGreen, do Minrav Group, Israel. Este produto apresenta atividade comprovada sobre *Botrytis*, *Penicillium*, *Rhizopus* e *Aspergillus* em uva, citrus, além de outras frutas (SHARMA et al., 2009), enquanto que Boniprotect™ (bioferm GmbH, Áustria) é recomendado para patógenos que penetram por ferimentos (*Penicillium* e *Botrytis*) em maçãs, peras e marmelos. Um novo produto, denominado Candifruit™ (Sipcam Inagra S.A., Espanha), formulado com uma cepa da levedura *Candida sake*, foi recentemente lançado no mercado espanhol para uso em pós-colheita de maçãs (USALL et al., 2010).

Apesar do auge de novas formulações dos produtos comerciais à base de leveduras, alguns já foram retirados do mercado, como o Aspire™ (Ecogen, EUA) e YieldPlus™ (Anchor Yeast, África do Sul), os quais utilizavam cepas de *Candida oleophila* e *Cryptococcus albidus* como ingredientes ativos, respectivamente (DROBY et al., 2009). O primeiro produto registrado em 1995 havia sido utilizado com êxito para o controle de enfermidades pós-colheita de citrus e maçã (DROBY et al., 1998, 2003) e o segundo foi registrado em 1997 para uso em maçãs e peras com o fim de controlar as podridões pós-colheita causadas por *B. cinerea*, *P. expansum* e *Mucor piriformis*. Contudo, na atualidade a comercialização do produto YieldPlus™ foi retomada pela empresa Lallemand Inc. e está novamente no mercado com recomendação para uso em pós-colheita contra *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum* e *Mucor piriformis* em pomáceas (<http://www.lallemand.com/our-business/plant-care/products>). Por sua vez, a cepa de *Candida oleophila* utilizada no produto Aspire™, está agora sendo utilizada como ingrediente ativo de um produto que está sendo desenvolvido pelas empresas BioNext (Bélgica) e Lesaffre (França) (DROBY et al., 2009).

Atualmente existem duas formulações que combinam leveduras antagonistas com produtos naturais para o controle de patógenos em pós-colheita. Os dois produtos contêm a mesma cepa de levedura pertencente à espécie *Candida saitoana* e estão disponíveis no mercado, comercializados pela Neova Technologies (Abbotsford, British Columbia, Canadá). Além da levedura antagonista, uma das formulações (InovaCoat™) contém quitosana, enquanto que a outra (InovaCure™) contém a enzima lisozima. Segundo Droby et al. (2009), a adição dos produtos naturais aumenta a eficácia da formulação em níveis similares aos obtidos com o tratamento químico.

### **Mecanismos mediante os quais os antagonistas exercem o biocontrole**

No processo de controle biológico em pós-colheita tem-se descrito vários possíveis mecanismos de ação. Em geral, um agente de controle biológico exitoso atua mediante vários mecanismos, os quais trabalham em conjunto, seja por interação com o hospedeiro ou diretamente com o patógeno (JAMALI-ZADEH et al., 2011; JANISIEWICZ, 2010; MONDINO; VERO, 2006). Além disso, o uso de antagonistas que atuam por mais de um mecanismo diminui a possibilidade da seleção de cepas do patógeno resistentes ao controle. Apesar destes mecanismos terem sido objeto de investigação durante mais de 20 anos, o conhecimento no tema ainda é incompleto (DROBY et al. 2009) devido às dificuldades associadas com o estudo das interações complexas entre o hospedeiro, o patógeno e o antagonista.

Em geral, os mecanismos de ação associados com microrganismos biocontroladores em pós-colheita têm sido os seguintes:

- » produção de antibióticos ou outras substâncias inibidoras (amensalismo);

- » parasitismo direto;
- » competição;
- » estimulação das defesas do hospedeiro (indução de resistência).

## **Amensalismo**

O amensalismo se refere à produção por um agente de controle biológico de substâncias inibitórias ou tóxicas ao patógeno, tais como antibióticos, bacteriocinas, toxinas *killer*, enzimas capazes de degradar a parede celular ou moléculas sinalizadoras de quórum necessárias para expressar a virulência do patógeno (JANISIEWICZ et al., 2010). Contudo, no controle biológico pós-colheita não se tem descrito ainda exemplos de antagonistas produtores de bacteriocinas ou enzimas que degradem sinais de quórum.

## **Antibióticos**

Os antibióticos são substâncias de baixo peso molecular capazes de inibir o crescimento e provocar a morte de um microrganismo. Em geral, os antibióticos têm um sítio específico de ação, pelo qual a resistência a estes aparece com facilidade. Certamente, é preferível que um agente de biocontrole não exerça sua atividade pela produção deste tipo de substância. Como exemplo de produção de antibióticos pode-se citar a cepa *Pseudomonas cepacia* LT-4-12W produtora de pirrolnitrina capaz de controlar as podridões pós-colheita causadas por *P. italicum* em citrus e o mofo cinzento e bolor azul em maçãs (JANISIEWICZ, 1991; SMILANICK; DENIS-ARRUE, 1992).

### **Toxinas *killer***

As toxinas *killer* ou micocinas são substâncias de natureza protéica produzidas por leveduras, que apresentam ação letal contra outras leveduras ou fungos filamentosos (VADKERTIOVÁ; SLAVIKOVÁ, 2007). A informação para a produção destas toxinas pode ser cromossômica ou citoplasmática codificada no DNA ou RNA de cadeia dupla extracromossômica. Um exemplo de micocinas aplicadas ao controle biológico em pós-colheita é a levedura *Pichia membranifaciens* CYC 1106 capaz de controlar o desenvolvimento de *B. cinerea* em feridas de maçãs colhidas (SANTOS et al., 2004). Os autores demonstraram que a toxina purificada foi capaz de inibir o patógeno *in vitro* e postularam sua participação como mecanismo de biocontrole pela levedura.

### **Produção de enzimas**

As enzimas, tais como quitinases, glucanases e proteases, capazes de degradar paredes celulares dos patógenos, também estão associadas com mecanismos de biocontrole de patógenos em pós-colheita. São abundantes os estudos que envolvem antagonistas capazes de produzir este tipo de enzimas as quais hidrolisam os polímeros das paredes das hifas, conídios ou escleródios (DROBY et al., 2009; JAMALIZADEH et al., 2011) em ensaios *in vitro* (CASTORIA et al., 2001; FRIEL et al., 2007; JIJAKLI et al., 1999; VERO et al., 2009). Na maioria dos casos, trata-se de enzimas induzíveis, produzidas na presença de paredes de hifas do patógeno. Entretanto, não se pode assegurar a produção destas enzimas sobre a planta.

## Degradação de sinais de quórum

*Pectobacterium carotovorum* é uma bactéria que causa a podridão-mole em pós-colheita de vários vegetais, incluindo-se a batata, a cenoura e o pimentão (BARNARD et al., 2007). A virulência desse patógeno depende da produção de exoenzimas, tais como pectinases, celulasas e proteases. A expressão dos genes que codifica estes fatores de virulência é controlada por sinais de quórum, que no caso desta bactéria são homoserina lactonas (WILLIAMS, 2007). Tem-se descoberto bactérias capazes de degradar os sinais de quórum o que resulta na incapacidade de expressão dos fatores de virulência do patógeno. Como exemplo pode-se citar o de Molina et al. (2003), no qual se utiliza a cepa A24 de *Bacillus* sp. como agente de biocontrole da podridão-mole em batata, causada por *P. carotovorum*. A cepa biocontroladora produzia uma lactonase, enzima capaz de degradar as homoserina lactonas produzidas pela bactéria patogênica como sinais de quórum, evitando dessa forma que a doença progredisse.

Até então, não se conhecem sinais de quórum que controlem fatores de virulência em fitopatógenos fúngicos; portanto, o mecanismo de biocontrole descrito se limita ao controle estrito de patógenos bacterianos.

## Parasitismo

O parasitismo consiste na utilização do patógeno como alimento por seu antagonista. Uma das descobertas mais recentes foi a capacidade de algumas leveduras antagonistas se aderirem e atuarem como micoparasitas de hifas. Wisniewski et al. (1991) foram os primeiros em documentar este fenômeno. A ação destas leveduras está também associada à sua capacidade de produzir enzimas que degradam as paredes dos fungos que parasitam e ao reconheci-

mento entre as leveduras e os fungos parasitados por meio de lectinas.

## Competição

Pode-se definir competição como o comportamento desigual dos organismos ante um mesmo requerimento, sempre e quando a utilização desse requerimento por um dos organismos reduza a quantidade disponível para os demais (DROBY; CHALUZ, 1994; JANISIEWICZ et al., 2000). Um fator essencial para que exista competição é que haja “escassez” de um elemento, se há excesso, não há competição. Os fungos patogênicos de pós-colheita dependem, para o seu desenvolvimento, dos nutrientes presentes sobre o vegetal ou em seus ferimentos, e é neste sítio que a competição microbiana atua inibindo o desenvolvimento destes fungos.

Vários trabalhos postulam a competição por nutrientes ou espaço, como possível mecanismo de biocontrole em pós-colheita. O trabalho de Kim et al. (1997) demonstrou que das cepas de *M. pulcherrima* capazes de controlar as podridões ocasionadas por *B. cinerea* em ferimentos de maçã, atuavam em competição por nutrientes. Por outro lado, Vero et al. (2002) demonstraram que duas cepas biocontroladoras identificadas como *Cryptococcus laurentii* e *Candida ciferrii* não exerciam o biocontrole quando *P. expansum* era adicionado aos ferimentos de maçã junto com uma fonte de nitrogênio. Isso sugeria que a competição pela fonte de nitrogênio estava envolvida no biocontrole já que a competição se suprimia quando o nitrogênio deixava de ser um fator limitante do crescimento microbiano. Janisiewicz et al. (2000) idealizaram um método para verificar a competição por nutrientes como mecanismo de biocontrole. Este método realiza cultivos sobre tecido vegetal utilizando uma membrana de difusão para separar o antagonista do patógeno. Mediante este método, demonstrou-se que a competição

por nitrogênio estava envolvida no biocontrole de *P. expansum* pela levedura *A. pullulans* em fermentos de maçã. Comprovou-se que o antagonista consumia os aminoácidos necessários para a germinação dos conídios do patógeno. Ultimamente, tem-se publicado trabalhos postulando a competição por ferro como um possível mecanismo de biocontrole. Saravanakumar et al. (2009) demonstraram que a diminuição de ferro causada por uma cepa de *M. pulcherrima* inibia o crescimento de *B. cinerea* e *Alternaria alternata in vitro* e em feridas de maçã. Sipiczki (2006) demonstrou que a diminuição de ferro no meio era causada pela levedura mediante a indisponibilização do metal em um complexo extracelular insolúvel denominado pulcherrimin. Em outros casos, postulou-se que a inibição do crescimento do patógeno devia-se à captação do ferro por parte do antagonista mediante a produção de sideróforos (SANSONE et al., 2005; VERO et al., 2009). É necessário recordar que para que ocorra este tipo de competição, é necessário que a concentração do metal no sítio de interação entre antagonista e patógeno, seja baixa e que ao diminuir constitua fator limitante ao crescimento do patógeno.

### **Indução de resistência**

Tem-se demonstrado que leveduras utilizadas para o biocontrole de patógenos de pós-colheita, além de competirem por espaço e nutrientes, são capazes de induzir resistência no hospedeiro. Por exemplo, Ippolito et al. (2000) demonstraram que a cepa *A. pullulans* L47 era capaz de induzir a produção de enzimas (quitinases, glucanases e peroxidases) em fermentos de maçã, onde a cepa era aplicada. A produção de enzimas por parte do hospedeiro iniciava 24 horas depois da aplicação do antagonista e chegava ao máximo após 96 horas da aplicação. Estas enzimas formam parte dos mecanismos de defesa do vegetal já que elas são capazes de

hidrolisar as paredes dos patógenos fúngicos que poderiam infectar o vegetal. Neste sentido, El-Gaouth et al. (2003) estudaram a indução de resistência causada pela inoculação da levedura biocontroladora *Candida saitoan* em ferimentos de maçã. Ficou demonstrado que ao aplicar a levedura em um ferimento, induzia-se a proteção contra o patógeno (*B. cinerea*) em um ferimento contíguo, separado por aproximadamente 2 cm. A proteção ocorria somente depois de 48 horas da aplicação do antagonista na ferida contígua, demonstrando que era necessário um determinado período para induzir a resposta. Por outro lado, Droby et al. (2002) demonstraram que a aplicação da levedura *Candida oloephila* em feridas de pomelo induzia a resistência a *P. digitatum*, 24 horas depois da aplicação. Demonstrou-se que a resistência estava relacionada com a indução da produção de etileno, da enzima fenilalanina amônia liase e da biossíntese de fitoalexinas e glucanases.

Outro mecanismo de resistência encontrado em frutas está associado com o acúmulo de peróxido de hidrogênio. Neste sentido, Jin et al. (2009) demonstraram que um incremento à resistência a vários patógenos fúngicos em pêssego, induzido pelo tratamento com metil jasmonato, estava associado a um aumento significativo de peróxido de hidrogênio no exocarpo da fruta. O tratamento com ácido salicílico também provocou um aumento nos níveis de peróxido de hidrogênio em manga, associado a um incremento de resistência à antracnose. Recentemente, tem sido demonstrado que a aplicação de leveduras antagonistas em ferimentos de maçã e citrus também provoca um aumento de peróxido de hidrogênio, no qual se associa um aumento de resistência à infecção por patógenos (MACARISIN et al., 2010). Contudo, a presença deste agente oxidante junto com outras espécies reativas de oxigênio (ROS), como o ânion superóxido, podem ser prejudiciais para a levedura antagonista. Assim, Castoria et al. (2003) afirmam que a habilidade dos agentes de biocontrole de tolerar altos níveis de es-

pécies reativas de oxigênio (ROS) é uma característica essencial aos microrganismos antagonistas. Neste sentido, o trabalho de Liu et al. (2011) demonstra que a tolerância ao estresse oxidativo pode ser uma característica induzível em leveduras antagonistas, como *Cystofilobasidium infirmominiatum* com atividade antagônica comprovada frente a *P. expansum* em maçãs. No trabalho, demonstrou-se que o tratamento da levedura com glicina betaína aumentava a resistência da levedura ao estresse oxidativo, promovia uma rápida colonização dos ferimentos de maçã e melhorava a atividade biocontroladora.

## Controle integrado

O controle integrado pode ser definido como um controle flexível, de aplicação multidimensional, que integra vários tipos de controle, como o biológico, físico e cultural, aliado com as estratégias de controle químico para a diminuição das doenças, mantendo a viabilidade econômica e sem danos ao agroecossistema (LEWIS; PAPAIVIZAS, 1991).

Este tipo de controle complementa a racionalização do controle químico nas técnicas de controle integrado com métodos naturais que satisfaçam cada vez mais as exigências econômicas, ecológicas e toxicológicas (NUÑEZ et al., 2003).

No esquema de controle integrado pode-se utilizar de forma sucessiva ou conjunta ao controle biológico, vários tipos de controle, entre eles o controle cultural, controle físico, controle genético e controle químico (VERO et al., 2002).

Dentre as medidas de controle físico aplicáveis na pós-colheita pode-se citar o uso do calor e de radiações não ionizantes (Ultravioleta-UV). Vários trabalhos têm demonstrado a eficiência da radia-

ção UV-C (260-280 nm) no controle de patógenos de pós-colheita. Nigro et al. (1998) demonstraram que uvas tratadas com radiação UV-C por 24 horas, apresentaram uma proteção de 50% contra o ataque do patógeno *Botrytis cinerea*. A proteção diminuiu com o tempo e após 144 horas da aplicação do tratamento, essa proteção apresentou valores iguais ao controle. O padrão de proteção pela radiação UV-C nessas condições estava relacionado à indução de resistência.

Embora a radiação UV-C tenha efeito deletério sobre os microrganismos em função do dano causado no DNA, a ação de proteção em pós-colheita com esse tratamento se deve à indução de resistência e não à ação germicida. Deve-se levar em conta que a radiação UV-C tem pouca ação penetrante e que a ação germicida somente ocorre na superfície do fruto que foi exposto à radiação. El-Ghaouth et al. (2003) demonstraram a indução de atividades das enzimas fenilalanina amônia liase, quitinase e glucanase, que estão relacionadas à resistência, em frutos de pêssago após o tratamento com radiação UV-C. Stevens et al. (1998) comprovaram que o tratamento sequencial com uso de radiação UV-C e leveduras usadas no biocontrole (*Debaryomyces hansenii*) potencializaram o controle de *Monilinia fructicola* em frutos de pêssago, chegando-se a valores de proteção de 88%, valores similares aos obtidos com o uso de fungicidas.

Os tratamentos com temperaturas elevadas também têm demonstrado resultados eficientes no controle de doenças pós-colheita. Os métodos utilizados são o tratamento com vapor e tratamento com água quente. O tratamento com vapor consiste em manter o produto após a colheita na presença de ar quente durante um período. Em geral, os períodos de exposição variam de um a vários dias e as temperaturas utilizadas são em torno de 37°C. O tratamento com água quente pode ser feito por imersão ou aspersão do produto durante períodos curtos, com duração de segundos e temperaturas

em torno de 55°C. As temperaturas e os períodos de tratamento dependem do produto; em geral pequeno aumento de tempo de exposição ou de temperatura podem trazer consequências drásticas na qualidade da fruta. Ambos processos têm tido resultados satisfatórios como tratamento curativo de injúrias que apresentam infecção por patógenos de pós-colheita. O efeito é curativo, não é preventivo e não tem efeito residual. Os trabalhos de Fallik et al. (2001) e Leverentz et al. (2000) são exemplos de estudos nos quais se utilizam tratamentos térmicos para evitar as podridões de pós-colheita em maçãs Golden Delicious. Tem-se utilizado com êxito o tratamento de distintos frutos por aspersão com água quente combinado com o uso de escovas. Desta forma, tem-se conseguido um maior controle das podridões em manga, pimenta e citrus. Também tem-se demonstrado a indução de respostas de resistência nos distintos frutos tratados, tais como, a atividade de quitinases e glucanases logo após o tratamento e a inibição de enzimas relacionadas à maturação dos frutos como as poligalacturonases (SCHIRRA et al., 2000).

Por outro lado, os tratamentos térmicos têm um efeito benéfico sobre determinados tipos de frutos conferindo-lhes resistência ao dano causado pelo frio. Ferguson et al. (2000) comprovaram que este efeito ocorre em maçãs e atribuem um papel importante às chamadas proteínas de choque térmico (heat-shock) que são detectadas logo após o tratamento. A utilização de tratamentos térmicos também tem sido eficiente quando combinada com microrganismos biocontroladores em estratégias simultâneas ou sucessivas (CONWAY et al., 2004; LEVERENTZ et al., 2003). A utilização sequencial do calor e de microrganismos antagonistas seria uma opção para o tratamento curativo de injúrias infectadas (tratamento térmico) e uma forma de prevenir a infecção no armazenamento (microrganismos antagonistas). Conway et al. (2004) descreveram um tratamento sequencial para maçãs que consistia

no tratamento com vapor a 38°C por 4 dias e posterior tratamento com cloreto de cálcio e com a bactéria antagonista *Pseudomonas syringae*. O tratamento integrado foi significativamente melhor com uso do antagonista do que os tratamentos usados separadamente.

O uso de controle biológico pode ser integrado também com o uso de substâncias químicas, de origem natural, com escasso risco toxicológico. Tem se realizado ensaios com o uso de bicarbonato de sódio e ácido acético como tratamentos curativos de ferimentos em citrus infectadas com *Penicillium italicum* (GARMENDIA et al., 2005). Neste trabalho foram inoculados esporos de *P. italicum* e *P. digitatum* nos ferimentos das laranjas e em seguida os frutos foram submersos em uma solução de bicarbonato a 3% e permaneceram durante 1 mês a 5°C (condições de armazenamento de laranjas). Os resultados obtidos demonstraram que somente 20% dos ferimentos tratados mostraram sintomas de apodrecimento causado por *P. digitatum* e apenas 6% por *P. italicum*. Smilanick et al. (1999) demonstraram que o uso de bicarbonato a 3% com a cepa de *Pseudomonas syringae* ESC-10 foi superior no biocontrole do mofo-verde dos citrus do que o uso dos tratamentos isoladamente.

Outras substâncias naturais utilizadas no controle de patógenos de pós-colheita são o quitosano e derivados. O quitosano é a forma desacetilada da quitina e segundo o método de obtenção pode apresentar vários graus de desacetilação. Apresenta por si mesmo atividade antifúngica e é capaz de formar sobre a fruta tratada um filme pouco permeável ao oxigênio; tem-se demonstrado, também, como um indutor de resistência na fruta tratada. Existem trabalhos combinando o uso de quitosano com microrganismos antagonistas para o biocontrole de doenças de pós-colheita. Por exemplo, o uso combinado de glicolquitosano a 0,2% e a levedura *Candida saitoana* demonstrou-se um alto nível de proteção em

citrus e maçã contra *P. digitatum* e *P. expansum*, respectivamente. O controle alcançado foi significativamente maior que o obtido para cada tratamento separadamente (EL-GHAOUTH et al., 2000).

Existem também exemplos de controle integrado utilizando controle biológico e controle químico em doses menores que as recomendadas. Lima et al. (2003) verificaram que a aplicação em conjunto das leveduras antagonistas *Cryptococcus laurentii* LS28 com baixas doses de tiabendazol foi mais efetiva no controle do mofo-azul em peras do que o uso isolado dos tratamentos. Arras et al. (2002) verificaram que a aplicação das leveduras antagonistas *Pichia guilliermondii* e *Candida oleophila* com baixas doses de tiabendazol (0,1 a 1,2 g/l), levou a uma proteção significativamente maior que o uso de cada um dos antagonistas separadamente.

## Conclusões

O controle biológico em pós-colheita é possível, e sem dúvida não tem alcançado todo o desenvolvimento comercial que corresponderia à vasta investigação do tema. Deve ser levado em conta que este tipo de controle é factível sempre e quando utilizado no contexto de um manejo adequado, integrado com outros métodos de controle; caracteriza-se por ser um controle preventivo, incapaz de curar, salvo algumas exceções, infecções pré-estabelecidas.

Um fator de suma importância para o êxito deste método de controle é conseguir uma aplicação adequada, para o qual é fundamental a formulação do produto que permita aos antagonistas estar acessível e desta forma colonizar os sítios de ação.

## Referências

ARRAS, G.; SCHERM, B.; MIGHELI Q. Improving biocontrol activity of *Pichia guilliermondii* against post-harvest decay of oranges in commercial packing-houses by reduced concentrations of fungicides. **Biocontrol Science and Technology**, Abingdon, v. 12, n. 5, p. 547-553, 2002.

ARREBOLA, E.; SIVAKUMAR, D.; BACIGALUPO, R.; KORSTEN, L. Combined application of antagonist *Bacillus amyloliquefaciens* and essential oils for the control of peach postharvest diseases. **Crop Protection**, Guildford, v. 29, n. 4, p. 369-377, 2010.

BARNARD, A. M. L.; BOWDEN, S. D.; BURR, T.; COULTHURST, S. J.; MONSON, R. E.; SALMOND, G. P. C. Quorum sensing, virulence and secondary metabolite production in plant soft-rotting bacteria. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, London, v. 362, n. 1483, p. 1165–1183, 2007.

BATTA, Y. A. Effect of treatment with *Trichoderma harzianum* Rifai formulated in invert emulsion on post harvest decay of apple blue mold. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 96, n. 3, p. 281-288, 2004.

BONATERRA, A.; MARI, M.; CASALINI, L.; MONTESINOS, E. Biological control of *Monilinia laxa* and *Rhizopus stolonifer* in postharvest of stone fruti by *Pantoea agglomerans* EPS125 and putative mechanisms of antagonism. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 84, n. 1, p. 93-104, 2003.

BRENT, K. J.; HOLLOMON, D. K. **Fungicide resistance, the assessment of risk**. Brussels: FRAC, 2007. (FRAC Monography, n. 2, 2007. 48 p.

CALVO, J.; CALVENTE, V.; ORELLANO, M. de; BENUZZI, D.; SANZ DE TOSETTI, M. I. Biological control of postharvest spoilage caused by *Penicillium expansum* and *Botrytis cinerea* in apple by using the bacterium *Rahnella aquatilis*. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 113, n. 3, p. 251-257, 2007.

CASTORIA, R.; CAPUTO, L.; DE CURTIS, F.; DE CICCO, V. Resistance of postharvest biocontrol yeasts to oxidative stress: a possible new mechanism of action. **Phytopathology**, St. Paul, v. 93, n. 5, p. 564-572, 2003.

CASTORIA, R.; DE CURTIS, F.; LIMA, G.; CAPUTO, L.; PACIFICO S.; AND DE CICCO, V. *Aureobasidium pullulans* LS-30 an antagonist of postharvest pathogens of fruits: study on its modes of action. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 22, n. 1, p. 7-17, 2001.

CONWAY, W.; LEVERENTZ, B.; JANISIEWICZ, W.; BLODGETT, A.; SAFTNER, R.; CAMP, M. Integrating heat treatment, biocontrol and sodium bicarbonate to reduce postharvest decay of apple caused by *Colletotrichum acutatum* and *Penicillium expansum*. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 34, n. 1, p. 11-20, 2004.

COOK, R. J.; BAKER, K. F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. St. Paul: American Phytopathological Society, 1983. 539 p.

DROBY, S.; CHALUTZ, E. Mode of action of biocontrol agents of postharvest diseases. In: WILSON, C. L.; WISNIEWSKI, M. E. (Ed.). **Biological control of postharvest diseases: theory and practice**. Boca raton: CRC, 1994. p. 63-75.

DROBY, S.; COHEN, L.; DAUS, A.; WEISS, B.; HOREV, E.; CHALUTZ, E.; KATZ, H.; KEREN-TZOUR, M.; SHACHNAI, A. Commercial testing of Aspire: a biocontrol preparation for the control of postharvest decay of citrus. **Biological Control**, Orlando, v. 12, n. 2, p. 97-101, 1998.

DROBY, S.; VINOKUR, V.; WEISS, B.; COHEN, L.; DAUS, A.; GOLDSMITH, E.; PORAT, R. Induction of resistance to *Penicillium digitatum* in grapefruit by the yeast biocontrol agent *Candida oleophila*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 92, p. 393-399, 2002.

DROBY, S.; WISNIEWSKI, M.; EL-GHAOUTH, A.; WILSON, C. Influence of food additives on the control of postharvest rots of apple and peach and efficacy of the yeast-based biocontrol product Aspire™. **Postharvest Biological Technology**, v. 27, p. 127-135, 2003.

DROBY, S.; WISNIEWSKI, M.; MACARISIN, D.; WILSON, C. Twenty years of postharvest biocontrol research: is it time for a new paradigm? **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 52, n. 2, p. 137-145, 2009.

EL-GHAOUTH, A.; SMILANICK, J. L.; WILSON, C. L. Enhancement of the performance of *Candida saitoana* by the addition of glycolchitosan for the control of postharvest decay of apple and citrus fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 19, n. 1, p. 103-110, 2000.

EL-GHAOUTH A.; WILSON C. L.; WISNIEWSKI M. Control of postharvest decay of apple fruit with *Candida saitoana* and induction of defense responses. **Phytopathology**, St. Paul, v. 93, n. 3, p. 344-348, 2003.

EL-GHAOUHT, A, WILSON, C. L.; WISNIEWSKI, M.; DROBY, S.; SMILANICK, J.; KORSTEN L. Biological control of postharvest diseases of citrus fruit. In: GNANAMANICKAM, S. **Biological control of crop diseases**. New York: Marcel Dekker, 2002. 480 p.

ESTERIO, M.; AUGER, J.; RAMOS, C.; GARCÍA, H. First report of fenhexamid resistant isolates of *Botrytis cinerea* on grapevine in Chile. **Plant Disease**, St. Paul, v. 91, p. 768, 2007.

ETEBARIAN, H.; SHOLBERG, P.L.; EASTWELL, K.C.; SAYLER, R.J. Biological control of apple blue mold with *Pseudomonas fluorescens*. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 51, p. 591-598, 2005.

FALLIK, E.; TUVIA-ALKALAI, S.; FENG, X.; LURIE, S. Ripening characterization and decay development of stored apples after a short pre-storage hot water rinsing and brushing. **Innovative Food Science Emerging Technologies**, Amsterdam, v. 2, n. 2, p. 127-132, 2001.

FAN, Q.; TIAN, S. P. Postharvest biological control of grey mold and blue mold on apple by *Cryptococcus albidus* (Saito) Skinner. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 21, n. 3, p. 341-350, 2001.

FERGUSON, I. B.; BEN-YEHOSHUA, S.; MITCHMAN, E.; MCDONALD, R. E.; LURIE, S. Postharvest heat treatments: introduction and workshop summary. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 21, n. 1, p. 1-6, 2000.

FRIEL, D.; GOMEZ PESSOA, N. M.; VANDENBOL, M.; JIJAKLI, H. M. Separate and combined disruptions of two *exo-b-1;3*-glucanase genes decrease the efficiency of *Pichia anomala* biocontrol against *Botrytis cinerea* on apple. **Molecular Plant Microbe Interactions**, St. Paul, v. 20, n. 4, p. 371-379, 2007.

GABLER, F. M.; FASSEL, R.; MERCIER, J.; SMILANICK, J. L. Influence of temperature, inoculation interval, and dosage on biofumigation with musc odor albus to control postharvest gray mold on grapes. **Plant Disease**, St. Paul, v. 90, n. 8, p. 1019-1025, 2006.

GARMENDIA, G.; GARAT, F.; AURRECOECHEA, I. de; VERO, S. Levaduras nativas como controladores de enfermedades postcosecha de frutas en Uruguay. **Agrociencias**, Montevideo, v. 9, n. 1-2, p. 327-335, 2005.

GEPP, V.; VERO, S.; CASSANELLO, M.; ROMERO, G.; SILVERA, E.; GONZÁLEZ, P.; REBELLATO, J.; FERREIRA, Y.; BENTANCUR, O. Resistencia a fungicidas en *Botrytis cinerea* en el Uruguay. **Agrociencia Uruguay**, Montevideo, v. 16, n. 1, p. 9-107, 2011.

GIACINTI, M. A. Pensamiento estratégico en el negocio mundial de manzanas. **Agroalimentaria**, Caracas, v. 17, n. 2, p. 49-60, 2003.

GOVENDER, V.; KORSTEN, L.; SIVAKUMAR, D. Semi-commercial evaluation of *Bacillus licheniformis* to control mango postharvest diseases in South Africa. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 38, n. 1, p. 57-65, 2005.

HERNÁNDEZ-MONTIEL, L. G.; OCHOA, J. L.; TROYO-DIÉGUEZ, E.; LARRALDE-CORONA, C. P. Biocontrol of postharvest blue mold (*Penicillium italicum* Wehmer) on Mexican lime by marine and citrus *Debaryomyces hansenii* isolates. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 56, n. 2, p. 181-187, 2010.

HUANG, Y.; DEVERALL, B. J.; MORRIS, S. C. Effect of *Pseudomonas cepacia* on postharvest biocontrol of infection by *Penicillium digitatum* and on wound responses of citrus fruit. **Australasian Plant Pathology**, Collingwood, v. 22, n. 3, p. 84-93, 1993.

IPPOLITO, S.; EL-GHAOUTH, A.; CHARLES, B. C.; WILSON, L.; WISNIEWSKI, M. Control of postharvest decay of apple fruit by *Aureobasidium pullulans* and induction of defense responses. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 19, n. 3, p. 265-272, 2000.

JAMALIZADEH M.; ETEBARIAN H. R.; AMINIAN, H.; ALIZADEH A. A review of mechanisms of action of biological control organisms against post-harvest fruit spoilage. **EPPO Bulletin**, Oxford, v. 41, n. 1, p. 65-71, 2011.

JANISIEWICZ, W. J. Biological control of postharvest fruit diseases. In: ARORA, D. K. (Ed.). **Handbook of applied mycology**. Volume 1: soil and plants. New York: Marcel Dekker, 1991. p. 301-325.

JANISIEWICZ, W. J. Quo vadis of biological control of postharvest diseases. In: PRUSKY, D.; GULLINO, M. L. (Ed.). **Post-harvest pathology**: plant pathology in the 21st century. Dordrecht: Springer, 2010. v. 2. p. 137-148.

JANISIEWICZ, W. J.; KORSTEN, L. Biological control of post harvested diseases of fruits. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 40, p. 411-441, 2002.

JANISIEWICZ, W. J.; TWORKOSKI, T. J.; KURTZMAN, C. P. Biocontrol potential of *Metschnikowia pulcherrima* strains against blue mold of apple. **Phytopathology**, St. Paul, v. 91, n. 11, p. 1098-1108, 2001.

JANISIEWICZ, W. J.; TWORKOSKI, T. J.; SHARER, C. Characterizing the mechanism of biological control of postharvest diseases on fruits with a simple method to study competition for nutrients. **Phytopathology**, St. Paul, v. 90, n. 11, p. 1196-1200, 2000.

JANISIEWICZ, W.J.; KURTZMAN, C.P.; BUYER, J.S. Yeasts associated with nectarines and their potential for biological control of brown rot. **Yeast**, v.27, p.389-398, 2010.

JIJAKLI, M. H.; LEPOIVRE, P.; GREVESSE, C. Yeast species for biocontrol of apple postharvest diseases: an encouraging case of study for practical use. In: UPADHYAY, R. K.; MUKERIJ, K. G. (Ed.). **Biotechnological approaches in biocontrol of plant pathogens**. New York: Kluwer, 1999. p. 31-49.

JIN, P.; ZHENG, Y.; TANG, S.; RUI, H.; WANG, C.Y. Enhancing disease resistance in peach fruit with methyl jasmonate. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Chichester, v. 89, n. 5, p. 802-808, 2009.

KARABULUT, O. A.; TEZCAN, H.; DAUS, A.; COHEN, L.; WIESS, B.; DROBY, S. Biological control of preharvest and postharvest rots in strawberries by *Metschnikowia fructicola*. **Biocontrol Science and Technology**, Abingdon, v.14, n. 5, p.513-521, 2004.

KIM, S. H.; CHI, J. G.; REITH, A.; KADENBACH, B.; PIANO, S.; NEYRITTI, V.; MIGHELI, Q.; GULLINO, M. L. Biocontrol capability of *Metschnikowia pulcherrima* against *Botrytis* postharvest rot of apple. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 11, n. 3, p. 131-140, 1997.

KUPFERMAN, E. Controlled atmosphere storage of apples. In: MITCHAM, E. J. (Ed.). **Apples and pears**. Davis, CA: University of California, 1997. v. 3, p. 1-30. (Postharvest Horticultural Series, n. 16).

KURTZMAN, C. P.; DROBY, S. *Metschnikowia fructicola*, a new ascosporic yeast with potential for biocontrol of postharvest fruit rots. **Systematic Applied Microbiology**, Stuttgart, v. 24, n.3, p. 395-399, 2001.

LEVERENTZ, B.; CONWAY, W. S.; CAMP, M. J.; JANISIEWICZ, W. J.; ABULADZE, T.; YANG, M.; SAFTNER, R.; SULAKVELIDZE, A. Biocontrol of *Listeria monocytogenes* on fresh-cut produce by treatment with lytic bacteriophages and a bacteriocin. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 69, n. 8, p. 4519-4526, 2003.

LEVERENTZ, B.; JANISIEWICZ, W.; CONWAY, W.; SAFTNER, R.; FUCHS, Y.; SAMS, C.; CAMP, M. Combining yeasts or a bacterial biocontrol agent and heat treatment to reduce postharvest decay of 'Gala' apples. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 21, n. 1, p. 87-94, 2000.

LEWIS, J. A.; PAPAIVIZAS, G. C. Biocontrol of plant diseases: the approach for tomorrow. **Crop Protection**, Guildford, v. 10, n. 2, p. 95-105, 1991.

LIMA, G.; DE CURTIS, F.; CASTORIA, R.; DE CICCIO, V. Integrated control of apple postharvest pathogens and survival of biocontrol yeasts in semi-commercial conditions. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 109, n. 4, p. 341-349, 2003.

LIU, X.; FANG, W.; LIU, L.; YU, T.; LOU, B.; ZHENG, X. Biological control of postharvest sour rot of citrus by two antagonistic yeasts. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 51, n. 1, p. 30-35, 2010.

LIU, J.; WISNIEWSKI, M.; DROBY, S.; VERO, S.; TIAN, S.; HERSHKOVITZ, V. Glycine betaine improves oxidative stress tolerance and biocontrol efficacy of the antagonistic yeast *Cystofilobasidium infirmominiatum*. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 146, n. 1, p. 76-83, 2011.

MACARISIN, D.; DROBY, S.; BAUCHAN, G.; WISNIEWSKI, M. Superoxide anion and hydrogen peroxide in the yeast antagonist-fruit interaction: A new role for reactive oxygen species in postharvest biocontrol? **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 58, n. 3, p. 194-202, 2010.

MACÍAS-RUBALCAVA, M. L.; HERNÁNDEZ-BAUTISTA, B. E.; OROPEZA, F.; DUARTE, G.; GONZÁLEZ, M. C.; GLENN, A. E.; HANLIN, R. T.; ANAYA, A. L. Allelochemical effects of volatile compounds and organic extracts from *Muscodor yucatanensis*, a tropical endophytic fungus from *Bursera simaruba*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 36, n. 10, p. 1122-1131, 2010.

MARI, M.; GUIZZARDI, M.; PRATELLA, G. C. Biological control of grey mold in pears by antagonistic bacteria. **Biological Control**, Orlando, v. 7, n. 1, p. 30-37, 1996.

MERCIER, J.; JIMÉNEZ, J. I. Control of fungal decay of apples and peaches by the biofumigant fungus *Muscodor albus*. **Postharvest Biology Technology**, Amsterdam, v. 31, n. 1, p. 1-8. 2004.

MERCIER, J.; SMILANICK, J. L. Control of green mold and sour rot of stored lemon by biofumigation with *Muscodor albus*. **Biological Control**, Orlando, v. 32, n. 3, p. 401-407, 2005.

MOLINA, L.; CONSTANTINESCU, F.; MICHEL, L.; REIMMAN, C.; DUFFY, B.; DEFAGO, G. Degradation of pathogen quorum-sensing molecules by soil bacteria: a preventive and curative biological control mechanism. **FEMS Microbial Ecology**, Amsterdam, v. 45, n. 1, p. 71-81, 2006.

MONDINO, P.; ALANIZ, S.; LEONI, C. Nuevas estrategias en el manejo de las enfermedades y sus resultados en la producción integrada. In: TELIS, V.; CARREGA, E. (Ed.). **Producción integrada en Uruguay**: claves de un sistema amigable con el medio ambiente que permite obtener frutas y hortalizas de alta calidad. Montevideo: PREDEG: GTZ, 2003. p. 75-78.

MONDINO, P.; VERO, S. **Control biológico de patógenos de plantas**. Montevideo: Facultad de Agronomía, 2006. 158 p.

NIGRO, F.; IPPOLITO, A.; LIMA, G. Use of UV-C light to reduce *Botrytis* storage rot of table grapes. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 13, n. 3, p. 171-181, 1998.

NUNES, C.; USALL, J.; TEIXIDÓ, N.; FONS, E.; VIÑAS, I. Post-harvest biological control by *Pantoea agglomerans* (CPA-2) on Golden Delicious apples. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 92, n. 2, p. 247-255, 2002.

NUÑEZ, S.; LEONI, C.; DE LUCCA, R.; MERINO, N.; BUSCHIAZZO, M.; CARBONE, F.; SCATONI, B.; MONDINO, P. **Programa de Producción Integrada Frutícola, Directivas Zona Sur-Uruguay**. Montevideo: Facultad de Agronomía, 2003.

OKIGBO, R.N.; IKEDIUGWU, F.E.O. Studies on biological control of postharvest rot of yam (*Dioscorea* spp.) with *Trichoderma viride*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 148, n. 6, p. 351-355, 2000.

PLAZA, P.; USALL, J.; SMILANICK, J.L.; LAMARCA, N. Combining *Pantoea agglomerans* (CPA-2) and curing treatments to control established infections of *Penicillium digitatum* on lemons. **Journal Food Protection**, Ames, v. 67, n. 4, p. 781-786, 2004.

PIMENTA, R. S.; MORAIS, P. B.; ROSA, C. A.; CORRÊA JUNIOR., A. Utilization of yeasts in biological control programs. In: SATYANARAYANA T.; KUNZE, G. (Ed.). **Yeast biotechnology: diversity and applications**. [S.l.]: Springer, 2009. p. 199-214.

ROBIGLIO, A.; SOSA, M. C.; LUTZ, M. C.; LOPES, C. A.; SANGORRÍN, M. C. Yeast biocontrol of fungal spoilage of pears stored at low temperature. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 147, n. 3, p. 211-216, 2011.

SANSONE, I.; REZZA, I.; CALVENTE, V.; BENUZZI, D.; SANZ DE TOSETTI, M.I. Control of *Botrytis cinerea* strains resistant to iprodione in apple with rhodotorulic acid and yeasts. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 35, n. 3, p. 245-251, 2005.

SANTOS, A.; SÁNCHEZ, A.; MARQUINA, D. Yeasts as biological agents to control *Botrytis cinerea*. **Microbiological Research**, Jena, v. 159, n. 4, p. 331-338, 2004.

SARAVANAKUMAR, D.; SPADARO, D.; GARIBALDI, A.; LODOVICA GULLINO, M. Detection of enzymatic activity and partial sequence of a chitinase gene in *Metschnikowia pulcherrima* strain MACH1 used as post-harvest biocontrol agent. **European Journal Plant Pathology**, Dordrecht, v. 123, n. 2, p.183-193, 2009.

SCHENA, L.; IPPOLITO, A.; ZAHAVI, T.; COHEN, L.; NIGRO, F.; DROBY, S. Genetic diversity and biocontrol activity of *Aureobasidium pullulans* isolates against postharvest rots. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 17, n. 3, p. 189-199, 1999.

SCHISLER, D. A.; SLININGER, P. J.; KLEINKOPF, G.; BOTHAST, R. J.; OSTROWSKI, R. C. Biological control of *Fusarium* dry rot of potato tubers under commercial storage conditions. **American Journal of Potato Research**, Orono, v. 77, n. 1, p. 29-40, 2000.

SCHIRRA, M.; D'HALLEWIN, G.; BEN.YEHOSHUA, S.; FALLIK, E. Host pathogen interactions modulated by heat treatment. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 21, n. 1, p. 71-86, 2000.

SHARMA R. R.; SINGH, D.; SINGH, R. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: a review. **Biological Control**, Orlando, v. 50, n. 3, p. 205-221, 2009.

SIPICZKI, M. *Metschnikowia* strains isolated from botrytized grapes antagonize fungal and bacterial growth by iron depletion. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 72, n. 10, p. 6716-6724, 2006.

SMILANICK, J. L.; DENIS-ARRUE, R. Control of green mold of lemons with *Pseudomonas* species. **Plant Disease**, St. Paul, v. 76, n. 5, p. 481-490, 1992.

SMILANICK, J. L.; MARGOSAN, D. A.; MLIKOTA, F.; USALL, J.; MICHAEL, I. F. Control of citrus green mold by carbonate and bicarbonate salts and the influence of comercial postharvest practices on their efficacy. **Plant Disease**, St. Paul, v. 83, n. 2, p. 139-145, 1999.

SPADARO, D.; GULLINO, M. L. State of art and future prospects of the biological control of postharvest fruit diseases. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 91, n. 2, p. 185-194, 2004.

SPADARO, D.; VOLA, R.; PIANO, S.; GULLINO, M. L. Mechanisms of action and efficacy of four isolates of the yeast *Metschnikowia pulcherrima* activity against postharvest pathogens on apples. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 24, n. 2, p. 123-134, 2002.

SPOTTS, R. A.; WALLIS, K.; SERDANIB, M.; O'GORMANC, D. T.; SHOLBERG, P. L. Real time polymerase chain reaction for rapid and quantitative determination of *Cystofilobasidium infirmominiatum* on the surfaces of apple, pear, and sweet cherry fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 51, n. 2, p. 227-231, 2009.

STEVENS, C.; KHAN, V.; LU, J.; WILSON, C.; PUSEY, P.; KABWE, M.; IGWEGBE, E.; CHALUTZ, E.; DROBY, S. The germicidal and hormetic effects of UV-C light on reducing brown rot disease and yeast microflora of peaches. **Crop Protection**, Guildford, v. 17, n. 1, p. 75-84, 1998.

STROBEL, G. A.; DIRKSE, E.; SEARS, J.; MARKWORTH, C. Volatile antimicrobials from *Muscodor albus*, a novel endophytic fungus. **Microbiology**, Reading, v. 147, n. 11, p. 2943-2950, 2001.

USALL, J.; TEIXIDÓ, N.; ABADIAS, M.; TORRES, R.; CAÑAMAS, T.; VIÑAS, I. Improving formulation of biocontrol agents manipulating production process. In: PRUSKY, D.; GULLINO, M. L. (Ed.). **Postharvest pathology: plant pathology in the 21st century**. Dordrecht: Springer, 2010. p. 149-169.

VADKERTIOVÁ, R.; SLAVIKOVÁ, E. Killer activity of yeasts from some natural environment against some medically important *Candida* species. **Polish Journal of Microbiology**, Warsaw, v. 56, p. 39-43, n. 1, 2007.

VERO, S.; GARMENDIA, G.; GARAT, M. F.; AURRECOECHEA, I. de; WISNIEWSKI, M. *Cystofilobasidium infirmominiatum* as a biocontrol agent of postharvest diseases on apples and citrus. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 905, p. 169-180, 2011.

VERO, S.; GARMENDIA, G.; GONZÁLEZ, M. B.; GARAT, M. F.; WISNIEWSKI, M. *Aureobasidium pullulans* as a biocontrol agent of postharvest pathogens of apples in Uruguay. **Biocontrol Science and Technology**, Abingdon, v. 19, n. 10, p. 1033-1049, 2009.

VERO, S.; MONDINO, P.; BURGUEÑO, J.; SOUBES, M.; WISNIEWSKI, M. Characterization of biocontrol activity of two yeast strains from Uruguay against blue mold of apple. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 26, n. 1, p. 91-98, 2002.

VIÑAS, I.; USALL, J.; TEIXIDÓ, N.; SANCHIS, V. Biological control of major postharvest pathogens on apple with *Candida sake*. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 40, n. 1-2, p. 9-16, 1998.

WILLIAMS, P. Quorum sensing, communication and cross-kingdom signalling in the bacterial world. **Microbiology**, Reading, v. 153, n. 12, p. 3923-3938, 2007.

WISNIEWSKI, M.; BILES, C.; DROBY, S.; MCLAUGHLIN, R.; WILSON, C.; CHALUTZ, E. Mode of action of the postharvest biocontrol yeast, *Pichia guilliermondii*. I. Characterization of the attachment to *Botrytis cinerea*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 39, n. 4, p. 245-258, 1991.

WISNIEWSKI, M.; WILSON, C.; DROBY, S.; CHALUTZ, E.; EL GHAOUTH, A.; STEVENS, C. Postharvest biocontrol: new concepts and applications. In: VINCENT, C.; GOETTEL, M. S.; LAZAROVITS, G. (Ed.). **Biological control: a global perspective**. Wallingford: CABI, 2007. p. 262-273.

WOZNIAK, A. **Caracterización de los patógenos postcosecha de citrus y perspectivas para el control biológico de los mismos**. 2003. 158p. Tesis (Maestrado en Biotecnología) - Facultad de Ciencias. Universidad de la República, Montevideo.

ZHANG, H.; ZHENG, X.; FU, C.; XI, Y. Postharvest biological control of gray mold rot of pear with *Cryptococcus laurentii*. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 35, n. 1, p. 79-86, 2005.

ZHENG, X.; ZHANG, H.; XI, Y. Effects of *C. laurentii* on biocontrol of postharvest decay of arbutus berries. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, Shanghai, v. 45, n. 1, p. 55-60, 2004.

## **Desafios da Produção e Comercialização de Entomopatógenos para o Controle de Pragas no Brasil**

José Eduardo M. Almeida, Antonio Batista Filho e Luís G. Leite

---

### **Introdução**

Os entomopatógenos são encontrados em abundância na natureza causando doenças em ácaros e insetos. O ramo da ciência que estuda as doenças de insetos é a entomopatologia e a linha de pesquisa que estuda o uso desses agentes para o controle de pragas é chamada de controle microbiano. Se considerar que existem mais de 2,5 milhões de espécies de insetos e que cada espécie tenha um organismo entomopatogênico associado verifica-se que o potencial do controle microbiano de pragas é muito grande e que as pesquisas nessa área começaram a obter grande destaque a partir dos anos 1980, quando houve um grande alarme em relação aos agrotóxicos utilizados em larga escala no mundo, contaminando o homem e o ambiente (ALVES, 1998).

Os principais entomopatógenos são: fungos, bactérias, vírus, nematoides, protozoários e rickétzias, encontrados em todo o mundo, nas mais diferentes condições.

Atualmente, existem alguns bioinseticidas à base de entomopatógenos, sendo as bactérias as mais produzidas por causa da facilidade de fermentação em meio líquido e da formulação. Os fungos

são considerados os mais estudados devido à sua forma de ação por contato e por ingestão, e em seguida os vírus e os nematoides (ALVES; LOPES, 2008).

No Brasil existem vários produtos à base da bactéria *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* e var. *israelensis* para o controle de lagartas desfolhadoras e pernalongos. Dentre os bioinseticidas à base de fungos entomopatogênicos estão a *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Lecanicillium lecanii* e *Sporothrix insectorum*. No caso de vírus entomopatogênicos, o mais utilizado é o AgNPV (*Baculovirus anticarsia*), o qual chegou a ser usado em cerca de 2 milhões de hectares. Nos últimos anos, devido a incidência de novas doenças na cultura da soja, houve significativa redução no uso de AgNPV. Os nematoides dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhbidits* são os mais estudados e em início de produção para serem comercializados como bioinseticidas (ALMEIDA et al., 2008). A produção de bioinseticidas à base de entomopatógenos possui uma série de desafios, que vão desde a pesquisa, a qual necessita de mais investimentos, até a produção, com seus aspectos ligados ao sistema de produção, automatização, formulação, legislação e comercialização. As empresas produtoras de bioinseticidas no Brasil são pequenas e com capital baixo para grandes investimentos em pesquisa, daí a lentidão no desenvolvimento de novos produtos a cada ano (BATISTA FILHO et al., 2006).

Apesar das dificuldades encontradas, o controle microbiano de pragas é uma das áreas de pesquisa que mais cresce na entomologia, atingindo os setores de produção agrícola e industrial.

### **Fungos entomopatogênicos**

Os fungos foram os primeiros agentes a serem aplicados no controle microbiano de insetos, com cerca de 80% das doenças de insetos causadas por esses patógenos (ALVES, 1998).

No Brasil, esses patógenos vêm sendo estudados há mais de sessenta anos, sendo que após 1964 ganhou efetivo impulso com a aplicação em massa do fungo *Metarhizium anisopliae* para o controle da cigarrinha-da-folha da cana-de-açúcar *Mahanarva posticata*, (ALVES, 1998).

A maioria dos projetos de pesquisa de controle microbiano de insetos é com fungos entomopatogênicos devido às características de ação desses patógenos, pois atuam por contato e ingestão, e sua grande variabilidade genética desfavorece a evolução da resistência em populações de ácaros e insetos-praga. Estão presentes em grande quantidade na natureza, sendo o solo o seu maior reservatório e por ser mais difícil os insetos tornarem-se resistentes pela sua grande variabilidade genética (ALVES et al., 2010; BATISTA FILHO et al., 2006).

### **Relação patógeno-hospedeiro**

Os fungos são capazes de atacar um grande número de espécies de insetos e praticamente todos os estágios de desenvolvimento desses organismos. A maioria dos fungos atua por contato e por ingestão, sendo que a sua grande variabilidade genética permite estudos de seleção de cepas ou isolados e avaliação dos mais virulentos para o controle de pragas.

As diferentes estruturas do fungo a serem utilizadas no controle de pragas e suas funções no ciclo natural do patógeno são: conídios, com função de reprodução e de disseminação; blastosporos, com função de disseminação na hemolinfa do hospedeiro; micélio, com função de migrar para fora do hospedeiro e permitir a conidiogênese do fungo; e esporos de resistência, com função de permitir a sobrevivência do fungo no solo. Grande parte dos hifomicetos pode ser utilizada na forma de conídios, blastosporos e micélio, sendo

as duas primeiras formas geralmente preferidas por serem infectivas ao hospedeiro. A escolha da forma do fungo a ser utilizada vai depender da espécie e isolado do patógeno, da dificuldade na sua produção, do ambiente onde será aplicado e do método de aplicação (ALMEIDA et al., 2008).

O ciclo das relações fungo-hospedeiro depende das condições ambientais, como temperatura, luz, umidade, radiação solar, condições nutricionais e suscetibilidade do hospedeiro e apresenta as seguintes fases: adesão, germinação, formação de apressórios, formação do grampo de penetração, penetração, colonização e reprodução (ALVES, 1998; ALVES et al., 2010).

## **Desafios para o uso de fungos entomopatogênicos**

### **Qualidade do bioinseticida**

A qualidade do bioinseticida à base de fungos entomopatogênicos é fundamental para o bom desempenho no controle de pragas. Os principais fatores de qualidade a serem levados em consideração são: concentração, viabilidade, pureza e virulência (MICHHEREFF FILHO et al., 2009).

#### *Concentração*

A determinação da concentração de conídios ou blastosporos de um bioinseticida pode ser conduzida com o auxílio de um hemacitômetro. O conhecimento da concentração do bioinseticida influencia na quantidade de inóculo que será aplicada, pois o potencial de inóculo é um fator que poderá determinar ou não a ocorrência da doença no inseto dependendo das condições climáticas (LEITE et al., 2003).

### *Viabilidade*

É o fator que determina a quantidade de inóculo, conídios ou blastosporos, que estão vivos em relação à concentração, que determinarão o desenvolvimento da doença no inseto alvo (LEITE et al., 2003).

### *Pureza*

A pureza do produto refere-se principalmente à porcentagem de microrganismos contaminantes, especialmente fungos e bactérias, no produto final, podendo ser determinados visualmente, olfativamente para bactérias, ou com o auxílio de um microscópio óptico (LEITE et al., 2003).

### *Virulência*

A virulência, caracterizada pela Concentração Letal Mediana  $CL_{50}$  e Tempo Letal Mediano  $TL_{50}$ , é geralmente determinada em centros de pesquisa. Para a manutenção da virulência do fungo dentro de uma indústria de bioinseticida, recomenda-se a passagem do agente no hospedeiro natural após, no máximo, 10 repicagens do patógeno em meio artificial. Após a passagem no hospedeiro natural, o fungo deve ser dividido em um maior número possível de amostras (matrizes), visando ter sua pronta disponibilidade para iniciar a produção do bioinseticida e minimizar o número de repicagens em meio artificial. O fungo deve ser armazenado em condições apropriadas, tais como refrigeração à no mínimo  $-10^{\circ}\text{C}$  por, no máximo, o período de um ano, após este tempo deve ser repicado em meio artificial ou passado pelo hospedeiro natural, caso necessário (LEITE et al., 2003).

## Formulação

Mais de 90% dos bioinseticidas à base de fungos entomopatogênicos comercializados no Brasil estão na forma de produto técnico, ou seja, meio de cultura, mais conídios ou propágulos, tal como arroz + fungo e carecem de refrigeração para a manutenção da viabilidade dos propágulos infectivos (ALMEIDA et al., 2008).

Existem formulações pó molhável, porém trata-se de produto técnico simplesmente, constituído de conídios puros, ou arroz moído misturado aos conídios. Essas formulações, além de serem pouco estáveis, provocam um problema de molhabilidade, ou seja, dificuldade de mistura em calda, ou decantação no fundo do tanque pulverizador. Essas formulações necessitam de refrigeração para a estabilização dos propágulos, porém muitas empresas produtoras insistem em comercializar o produto sem refrigeração, o que não garante a viabilidade dos fungos (ALMEIDA et al., 2008).

A formulação óleo emulsionável (OE) com propágulos dos fungos também é encontrada no mercado brasileiro. Apesar do custo maior, a formulação OE permite uma melhor mistura de tanque e em alguns casos até a manutenção do produto em temperatura ambiente, mas nunca além de 30 dias (ALMEIDA et al., 2008).

Para os fungos entomopatogênicos a formulação é um dos maiores desafios, pois pouco se tem avançado nessa área, e em todos os casos ainda necessita da refrigeração à base de eletricidade. O desenvolvimento de bioinseticidas à base de fungos deve ser cada vez mais absorvido pelas empresas, pois é de grande importância para a inovação tecnológica; porém aliado às vantagens das formulações, o custo também deve ser viável para que o controle biológico de pragas continue a ser uma técnica de manejo cada vez mais aplicada (ALMEIDA et al., 2008).

## **Aplicação**

### *Qualidade da água*

A água a ser utilizada na aplicação de fungos entomopatogênicos deve ser isenta de matéria orgânica, de preferência filtrada, com pH entre 5,5 e 6,5 (LEITE et al., 2003).

### *Equipamentos de aplicação*

Na maioria dos casos os equipamentos usados na aplicação de bioinseticidas à base de fungos é o mesmo utilizado para inseticidas químicos, porém devem estar bem limpos, através da tríplice lavagem para evitar resíduos de inseticidas e, principalmente, de fungicidas e herbicidas incompatíveis à grande maioria dos fungos.

### *Horário da aplicação*

Os fungos entomopatogênicos sofrem com o impacto da luz ultravioleta do sol, portanto, devem ser aplicados sempre após as 16h, de preferência com umidade relativa acima de 65% (ALVES et al., 2010).

### *Chuva*

A chuva pode ser um fator positivo no caso em que o fungo precisa atingir pragas na superfície do solo; porém no caso de pragas da parte aérea, a água da chuva pode lavar os conídios da planta, diminuindo o potencial de inóculo (LEITE et al., 2003).

### *População da praga*

O monitoramento da praga é um dos instrumentos mais importantes para o controle biológico com fungos, pois diferente dos inseticidas químicos, os fungos demoram de 5 a 10 dias para causar um impacto na população da praga. Portanto, essa população não pode estar próxima do nível de dano econômico, pois caso contrá-

rio, o fungo não teria tempo para deixá-la em condições de equilíbrio (ALVES et al., 2010).

## **Alguns programas com fungos entomopatogênicos**

### **1) Controle da cigarrinha-das-folhas da cana-de-açúcar**

O controle da cigarrinha-das-folhas da cana-de-açúcar *Mahanarva posticata* é o programa de controle microbiano com fungo mais antigo do Brasil, tendo seu início nos anos 70. Atualmente são aplicados em torno de 300.000 ha de *M. anisopliae* para o controle dessa praga nos estados de Alagoas, Pernambuco e Sergipe (ALVES, 1998).

A recomendação é de 500 g de conídios puros de *M. anisopliae* por hectare aplicados por meio de pulverização tratorizada ou aérea. Porém, o monitoramento da praga é fundamental para a decisão do início das aplicações, visto que o ciclo desta praga inicia-se no período das chuvas do Nordeste, podendo ter três gerações (ALVES et al., 2010).

O programa de controle biológico da cigarrinha-das-folhas da cana foi iniciado pelo extinto Instituto do Açúcar e do Alcool – PLANALSUCAR e hoje é mantido pelas usinas de açúcar e álcool e empresas produtoras de fungo.

### **2) Controle da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar, *Mahanarva fimbriolata***

A cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar tem se tornado uma das principais pragas desta cultura, principalmente em razão da colheita sem queima, realizada com máquinas, que proporciona maior acúmulo de umidade, devido à deposição da palha no solo. Essa praga suga as raízes causando perdas de até 60% de peso da

cana e afeta a produção de açúcar e álcool (ALMEIDA et al., 2003; ALMEIDA; BATISTA FILHO, 2006)

A aplicação do fungo *M. anisopliae* tem sido realizada em aproximadamente 350.000ha (2013/2014) no estado de São Paulo, com eficiência média de 60% de controle, permitindo que os produtores de cana possam conviver com a praga. Atualmente, no Brasil essa área chega a 1,5 milhões de hectares (ALMEIDA, 2014).

A recomendação de aplicação deste fungo é de 5 kg de arroz + fungo lavado e a suspensão pulverizada na proximidade das raízes da cana com vazão de 300 L/ha ou por via aérea com vazão de 30 L/ha. Também é possível a aplicação aérea do arroz + fungo de 7 a 10 kg/ha (ALMEIDA et al., 2004; ALVES et al., 2010) .

### 3) Controle das cigarrinhas-das-pastagens

As cigarrinhas são consideradas uma das principais pragas das pastagens, causando danos estimados em cerca de 10 milhões de hectares de gramíneas, provocando prejuízos de até 90%, dependendo da espécie da gramínea, clima, espécie de cigarrinha e do manejo do pasto (ALMEIDA et al., 2000).

As principais espécies encontradas no centro-sul são: *Zulia entre-riana*, *Deois flavopicta*, *Deois schach* e *Mahanarva fimbriolata*.

O fungo *M. anisopliae* pode ser aplicado com o surgimento das segundas e terceiras gerações de ninfas (entre dezembro a março), pois as aplicações sobre as gerações mais populosas de ninfas tendem a ser mais eficientes. Esse entomopatógeno é utilizado na concentração de  $5 \times 10^{12}$  conídios/ha, ou seja, 50 g de conídios puros por hectare ou 1 kg de produto formulado, podendo ser aplicado com pulverizadores terrestres, gastando-se 200 a 300 L de água/ha (ALMEIDA et al., 2000).

Além dessas recomendações, é importante que o fungo seja aplicado em pastagens com 25 a 40 cm de altura, com o objetivo de evitar a ação indesejável da radiação ultravioleta sobre o fungo. É indispensável, também, uma elevada umidade, seguida de veranicos e temperatura na faixa de 25° a 27°C para a obtenção de bons resultados de controle.

#### 4) Controle da broca-da-bananeira

A broca-da-bananeira *Cosmopolites sordidus* é considerada o principal inseto-praga da cultura da banana, não só pelos prejuízos que causa ao rizoma da planta, mas pela possibilidade de transmissão de doenças como o mal-do-Panamá. Os prejuízos podem chegar a 50% da produção, causando redução do tamanho dos cachos e queda de bananeiras (BATISTA FILHO et al., 1989).

O controle é realizado com o fungo *Beauveria bassiana* em iscas de pseudocaule de bananeira do tipo telha ou tipo queijo. A aplicação do fungo é feita em pasta de arroz a partir do meio de cultura de arroz pré-cozido com 1 kg de arroz com fungo (micélio + conídios + meio) em 1 L de água, ou 1 kg de arroz + fungo batido em liquidificador com 1 L de água. A pasta deve ser espalhada nas iscas e aplicada no campo (BATISTA FILHO et al., 1994).

As recomendações para o controle biológico da broca-da-bananeira consistem em: aplicar o fungo 100 a 150 iscas/ha, fazendo a pasta de arroz + fungo conforme explicado. Colocar as iscas com a superfície tratada voltada para o solo. As iscas devem ser substituídas por outras iscas a cada 15 dias, mantendo-se o tratamento até que o número de insetos capturados por isca seja menor que cinco. Outra forma é a utilização do fungo em grãos de arroz inteiros ou moídos diretamente nas iscas de pseudocaule de bananeira (BATISTA FILHO et al., 1995).

### 5) Broca dos citros

A broca-dos-citros *Diploschema rotundicolle* encontra-se distribuída em todos os laranjais do estado de São Paulo, causando prejuízos nas plantas, devido à perfuração de galhos e até tronco, caso não seja realizado um controle cultural.

A aplicação do fungo *M. anisopliae* numa formulação pó molhável pela injeção nos orifícios realizados pela broca ou a introdução de lagartas de *Galleria mellonella* infectadas pelo fungo nas galerias da broca, são medidas de controle biológico eficazes (ALVES, 1998).

### 6) Controle do percevejo-de-renda da seringueira

O percevejo-de-renda *Leptopharsa heveae* é a principal praga da seringueira na Amazônia, Centro-Oeste e São Paulo, pois perfura as folhas com seu aparelho bucal sugador para retirar a seiva, causando a queda das folhas, redução da fotossíntese e perda da produção de látex, já que esta praga ataca a planta na época das chuvas, período de produção de borracha nessas regiões do Brasil.

O controle tem sido realizado com o fungo *Sporothrix insectorum* aplicado em pulverizações sobre as árvores na época de chuvas, quando ocorre o ataque da praga. O fungo é aplicado na concentração de  $10^8$  conídios/mL, sendo 1 a 2 L/ha. A eficiência de controle após 60 dias da aplicação atinge de 70 a 100% (LEITE et al., 1998).

### 7) Controle da broca-do-café

A broca-do-café *Hypothenemus hampei* é uma das principais pragas do cafeeiro e causa sérios prejuízos para a cultura. O controle dessa praga com o fungo *B. bassiana* vem sendo aplicado nos estados do Paraná e São Paulo com eficiência média de 60% de controle.

O controle dessa praga é realizado com pulverizações de *B. bassiana* na concentração de  $3 \times 10^{12}$  conídios/ha na época de revoada da broca, nos meses de novembro e dezembro (ALVES, 1998).

### 8) Controle do cupim das pastagens

O cupim das pastagens *Cornitermes cumulans* é encontrado praticamente em todas as regiões de pastagens do Brasil, trazendo transtornos para o manejo do gado e depreciando as pastagens onde são encontradas grandes quantidades de murundus de terra, seus ninhos (ALMEIDA et al., 2000).

O controle é feito por meio dos fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana*, aplicados com uma polvilhadora formicida adaptada com uma câmara na mangueira de descarga para melhorar a distribuição do fungo dentro do ninho.

A concentração aplicada depende do tamanho do ninho que pode variar de 6 a 12 g da formulação arroz moído + conídios do fungo, para o controle da praga. O importante é a boa distribuição no ninho (ALMEIDA et al., 2000).

### Bactérias entomopatogênicas

As doenças de insetos causadas por bactérias foram descobertas em criações de bicho-da-seda e abelhas *Apis mellifera* no final do século XIX com estudos de Pasteur. A partir daí foram descobertos novos gêneros, como *Bacillus* e passaram a agrupar as bactérias entomopatogênicas em três categorias: obrigatórias, facultativas e potenciais, ou mesmo em outras classificações, tais como: esporulantes e não esporulantes (ALVES, 1998).

As pesquisas de controle microbiano com bactérias cresceram ao nível de estudos taxonômicos, aplicação no controle de pragas, produção e formulação de bioinseticidas à base de bactérias entomopatogênicas.

Atualmente os bioinseticidas bacterianos são os mais vendidos no mundo, sendo pelo menos 60% do mercado. Além disso, estudos vêm sendo realizados sobre plantas transgênicas com genes de *Bacillus thuringiensis* para a produção de  $\delta$  - endotoxina para o controle de lagartas desfolhadoras (CAPALBO et al., 2008).

O mercado de inseticidas bacterianos no Brasil no ano de 1998 foi de US\$ 142 milhões, trazendo enormes avanços nas pesquisas e na sua utilização no controle de pragas (ALVES, 1998).

### **Classificação de bactérias**

De acordo com Alves (1998), as bactérias podem ser classificadas em:

- a. Obrigatórias: causam doenças específicas em insetos, em um número limitado de hospedeiros e não crescem em meio artificial. Ex. *Bacillus popilliae*.
- b. Facultativas: são capazes de invadir, infectar e destruir tecidos. Multiplica-se na luz intestinal e crescem em meios artificiais. Ex: *Bacillus thuringiensis*.
- c. Potenciais: pouco específicas em relação ao hospedeiro, vivem na luz intestinal onde não se multiplicam. Quando atingem a hemolinfa ou outro tecido, em função de um estresse, multiplicam-se neste e causam infecções. Ex: todas as bactérias não esporulantes.

As bactérias podem ser classificadas ainda como:

- a. Esporulantes: forma uma estrutura de resistência chamada esporo.
- b. Não esporulantes: não possuem essa estrutura.

O uso de bactérias no controle de pragas concentra-se nas bactérias esporulantes, principalmente do gênero *Bacillus*; apesar do gênero *Clostridium* ser uma bactéria esporulante seu uso é inexpressivo.

O gênero *Bacillus* caracteriza-se por apresentarem forma alongada (bastonete), que crescem isoladas ou em cadeia. Crescem sob condições aeróbicas ou facultativamente anaeróbicas conseguindo, em função do seu aparato enzimático, atacar uma vasta relação de substratos. Muitas espécies acumulam proteínas tóxicas em cristais (ALVES, 1998).

### ***Bacillus thuringiensis***

É a bactéria entomopatogênica mais estudada. Possui esporos elípticos e cilíndricos, em posição central, com um esporângio não nitidamente estendido. É aeróbica, podendo facultativamente crescer em anaerobiose, dentro da faixa de 10 a 45°C. Possui um cristal protéico de alto peso molecular, chamado de  $\delta$  - endotoxina (ALVES, 1998).

A serotipagem foi o método aplicado para a caracterização dos isolados de *B. thuringiensis* isoladas no mundo. Portanto, a serotipagem do antígeno-H, além de parâmetros bioquímicos mais precisos, facilitou bastante a diferenciação entre vários isolados.

Com o método de serotipagem do antígeno-H (aglutinação flagelar) nove serótipos distintos (padrões) foram capazes de se agrupar. Por exemplo, existe a linhagem H-14 isolada de larvas de Chironomidae.

As principais toxinas produzidas por *B. thuringiensis* são:

a.  $\delta$  - endotoxina (toxinas do cristal):

O cristal protéico com peso molecular de 230.000 daltons é uma toxina altamente eficaz no controle de insetos que, quando solubilizadas e digeridas, liberam porções menores e tóxicas que irão ligar-se à membrana do trato digestivo (mesêntero) desencadeando uma série de eventos (ALVES, 1998).

Após a ingestão do esporo e do cristal, a ação do pH alcalina e de enzimas proteolítica do mesêntero dissolve o cristal e digere as protoxinas, liberando porções tóxicas menores (dentre ela a  $\delta$  - endotoxina). Esta age diretamente nas células epiteliais do mesêntero ligando-se à superfície, alterando-a morfo e fisiologicamente. As células afetadas tornam-se inchadas e as organelas são destruídas. O tecido é destruído e desintegrado havendo passagem do material gástrico para a hemocele, levando à morte do inseto. O esporo ingerido germina quando há mistura dos conteúdos citados e assim as células invadem os tecidos causando septicemia (BAPTISTA FILHO et al., 2006).

b.  $\beta$  - exotoxina:

É uma substância termoestável na água e altamente tóxica para muitos insetos e certos vertebrados. Foi constatado um efeito teratogênico em intestinos de bovinos e ratos, sendo proibido nos EUA a utilização de linhagens de *B. thuringiensis* de alta produção de  $\beta$  - exotoxina (ALVES, 1998).

c.  $\alpha$  - exotoxina:

É uma substância solúvel em água, termolábil tóxica para insetos. Também produzida por *B. cereus*, exige um intervalo de pH entre 6,6 e 7,4 para melhor atuação. Foi constatada como tóxica para camundongos, por isso foi chamada de "toxina de camundongos" (ALVES, 1998).

d. Toxina dos piolhos:

Foi detectada alta suscetibilidade de quatro espécies de piolhos de mamíferos (*Bovicola bovis*, *B. crassipes*, *B. limbata* e *B. ovis*) a uma linhagem de serótipo H-3a:3b (var. *kurstaki*) não produtora de  $\beta$  - exotoxina (ALVES, 1998).

***Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (H-14):**

A variedade *israelensis* de serótipo H-14 possui capacidade de causar doença em larvas de Díptera, especificamente pernilongos.

Os sintomas externos do efeito de *B. thuringiensis* var. *israelensis* em larva de culicídeos e simúlídeos são: após a ingestão do patógeno, as larvas perdem gradualmente sua agilidade, com redução rápida nos movimentos das peças bucal minutos após a infecção, revelando perda de apetite ou pelo menos dificuldade de alimentação, terminando com a parada total da alimentação. Convulsões esporádicas ocorrem no início do processo, com seu ritmo aumentando gradativamente, indicando efeitos nos sistemas neuromuscular da larva. Trinta minutos após a infecção, as larvas perdem a capacidade de flutuação, sendo que as larvas grandes morrem por afogamento (BATISTA FILHO et al., 2006).

Além da toxemia, esses sintomas indicam a alta possibilidade da morte da larva por acentuada asfixia e não somente pela ação da  $\delta$  - endotoxina.

***Bacillus sphaericus***

Os esporos desta bactéria são esféricos, por isso leva este nome específico. Situa-se terminalmente no esporângio, que é nitidamente distendido.

Essa bactéria tem sido utilizada no controle de larvas de pernilongos, recebendo grande consideração da Organização Mundial da Saúde que tratam do controle desses vetores.

As larvas de pernilongos apresentam os primeiros sintomas a partir de dez minutos após a infecção, caracterizados pela redução da taxa de ingestão. Entre duas a cinco horas pós-infecção, param de se alimentar, com a morte ocorrendo entre dois a sete dias, dependendo do inóculo. A bactéria causa morte por septicemia nas larvas de pernilongo (ALVES, 1998).

## **Desafios para o uso de bactérias entomopatogênicas**

### **Qualidade do bioinseticida**

A qualidade do bioinseticida à base de bactérias entomopatogênicas está relacionada, principalmente, à espécie do isolado a ser aplicado e sua potência, normalmente, é expressa no rótulo do produto. Os fatores de concentração, viabilidade e pureza também precisam ser levados em consideração (CAPALBO; MORAES, 1987; CAPALBO et al., 2008).

### **Aplicação**

#### *Qualidade da água*

A água a ser utilizada na aplicação de bactérias entomopatogênicas deve ser isenta de matéria orgânica, de preferência filtrada, com pH entre 6,5 a 7,0.

#### *Equipamentos de aplicação*

Deve-se levar em conta as mesmas recomendações para os fungos.

### *Horário da aplicação*

As bactérias também sofrem com o impacto da luz ultravioleta do sol, portanto, devem ser aplicadas sempre após as 16h, de preferência com umidade relativa acima de 65% (ALVES, 1998).

### *Chuva*

Para as bactérias, o importante é atingir a parte aérea, portanto a água da chuva pode lavar os esporos e cristais da planta, diminuindo o potencial de inóculo. Desse modo, deve-se aplicar em dias que se tenha certeza de que não vai chover dentro de 6 horas após a aplicação (ALVES, 1998).

### *População da praga*

No caso de bactérias entomopatogênicas, a população das pragas a serem atingidas deve estar no estágio de larvas e de preferência nos primeiros e segundo ínstar, pois no caso de larvas maiores, poderia haver uma diminuição da eficiência na dosagem recomendada, necessitando o seu aumento (ALVES, 1998).

## **Vírus entomopatogênicos**

Os vírus, principalmente os do grupo *Baculovirus* (poliedroses nucleares e granuloses), possuem um grande potencial para utilização no controle de insetos-praga. Por serem eficientes, específicos e seguros para o homem e outros animais, estes vírus preenchem todos os requisitos básicos como alternativa aos inseticidas, tóxicos e poluentes, tradicionalmente utilizados na proteção de culturas (ALVES, 1998).

Os vírus contaminam os insetos por via oral, normalmente são ingeridos com os alimentos representados por folhas e caules de plantas. A contaminação através dos ovos dos insetos também é possível. Assim, a contaminação interna dos ovos (transovariana) não é comum; porém, a disseminação do vírus sobre o córion dos ovos pode ser mais frequente, sendo que a contaminação do inseto (principalmente lagartas) recém-nascido é facilitada pelo seu hábito de comer o córion do ovo após o nascimento (ALVES, 1998).

Após a ingestão, os poliedros que contêm as partículas de vírus (vírions), em condições alcalinas ( $\text{pH} > 7,5$ ) do tubo digestivo do mesêntero são dissolvidos liberando os vírions. Os vírions, em contato com as microvilosidades intestinais, liberam os capsídeos nas células epiteliais do intestino, iniciando a infecção primária. Posteriormente atingem outros tecidos com grande produção de cristais dentro das células caracterizando a infecção secundária e provoca o rompimento da parede celular. Nessa fase, os insetos contaminados liberam, através do vômito e das fezes, grandes quantidades de poliedros que representam importantes fontes de inóculo para outros insetos que vivem no mesmo habitat. Também, após a morte, o inseto “podre” representa uma fonte de inóculo muito significativa para a manutenção de epizootias (ALVES, 1998; PAVAN, 1986).

## **Desafios para o uso de vírus entomopatogênicos**

### **Qualidade do bioinseticida**

Os fatores de concentração, viabilidade e pureza também precisam ser levados em consideração (BATISTA FILHO, 1997).

## **Aplicação**

### *Qualidade da água*

A água a ser utilizada na aplicação de vírus entomopatogênicos deve ser isenta de matéria orgânica, de preferência filtrada, com pH entre 6,5 a 7,0 (BATISTA FILHO, 1997).

### *Equipamentos de aplicação*

Deve-se levar em conta as mesmas recomendações para os fungos.

### *Horário da aplicação*

Os vírus, assim como os demais microrganismos, também sofrem com o impacto da luz ultravioleta do sol, portanto, devem ser aplicados sempre após as 16h, de preferência com umidade relativa acima de 65%.

### *Chuva*

No caso dos vírus, o importante é atingir a parte aérea, portanto a água da chuva pode lavar os esporos e cristais da planta, diminuindo o potencial de inóculo. Desse modo, deve-se aplicar em dias que se teria certeza de que não vai chover dentro de 6 horas após a aplicação.

### *População da praga*

A população das pragas a serem atingidas deve estar no estágio de larvas e de preferência nos primeiros e segundo ínstares, pois no caso de larvas maiores, poderia haver uma diminuição da eficiência na dosagem recomendada, necessitando o seu aumento, ou mesmo não ser eficiente (MOSCARDI; SANTOS, 2005).

## Exemplos de sucesso na utilização de vírus entomopatogênicos no Brasil

### 1) Lagarta-da-soja - *Anticarsia gemmatalis*

A lagarta-da-soja *Anticarsia gemmatalis* é o principal inseto desfolhador que ataca a cultura da soja. No Brasil, o controle dessa praga através do uso do vírus de poliedrose nuclear (VPN) de *A. gemmatalis*, representa o maior programa mundial de controle de um inseto utilizando baculovírus (BATISTA FILHO, 1996).

A infecção ocorre por via oral, através das folhas contaminadas pela aplicação do vírus via pulverização terrestre ou aérea. A lagarta infectada apresenta, após o quarto dia, redução na alimentação, pouca mobilidade e coloração branco-leitosa, sendo que a morte acontece em aproximadamente 7-8 dias após a ingestão do vírus. Com o passar do tempo o corpo da lagarta torna-se escuro e apodrece, daí o nome “doença preta”. Nesse momento grande quantidade de vírus é liberada sobre as folhas e servirão de fonte de inóculo para contaminar lagartas sadias. Insetos predadores são importantes disseminadores do microrganismo (MOSCARDI, 1983).

A aplicação deve ser feita quando for constatado, na lavoura, um número máximo de 40 lagartas pequenas (até 1,0 cm de comprimento) por pano de batida (instrumento utilizado para amostragem de insetos na cultura da soja). É importante salientar que essa recomendação está estritamente relacionada com o tamanho ou idade das lagartas na cultura, pois a eficiência do vírus será tanto maior quanto menor for o tamanho das lagartas. Para a população que tiver ultrapassado os limites recomendados deve-se seguir o programa de manejo integrado das pragas da soja. Por ter especificidade relativamente alta não se deve utilizar o vírus quando ocorrerem, junto com a lagarta-da-soja, outras espécies de insetos considera-

dos pragas-chave e que estejam no nível de controle; além disso, não se recomenda a pulverização preventiva do vírus (BATISTA FILHO; CRUZ, 1987).

Para cada hectare, deve-se utilizar 50 lagartas grandes (maiores que 2,5 cm) infectadas pelo vírus ou a concentração recomendada na formulação comercial. Quando a prática for utilizar lagartas contaminadas, o preparo consiste em acrescentar água ao material em quantidade suficiente para fazer uma maceração seguida de uma coagem em pano, gaze ou outro meio. Esse “filtrado” é colocado no tanque de pulverização com a quantidade de água recomendada para aplicação. Quando se tratar de formulação comercial (pó molhável) fazer uma pré-mistura com um pouco de água antes de colocá-la no tanque do pulverizador. As vazões utilizadas para aplicações terrestres variam de 100 a 200 L/ha. As aplicações aéreas podem ser realizadas utilizando-se como veículo o óleo de soja bruto ou refinado (BATISTA FILHO; CRUZ, 1987).

## 2) Mandarová-da-mandioca - *Erinnys ello*

Considerada uma das principais pragas da mandioca, o mandarová-da-mandioca *Erinnys ello* pode destruir plantações inteiras se não for controlado. O programa implementado inicialmente no estado de Santa Catarina, pela Empresa de Pesquisa Agropecuária e Assistência Técnica (EPAGRI) utilizando um vírus da granulose (VG), tem se mostrado eficiente no combate à praga provocando a morte de 90% da população aos nove dias da infecção. Atualmente, é fornecido na forma de inóculo para multiplicação em lavouras, pelos próprios produtores, pelo Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR) (BATISTA FILHO et al., 2006).

O patógeno é utilizado na forma impura (macerado de lagartas contaminadas) em plantações de alguns Estados da Federação. A preparação da calda consiste em macerar as lagartas com um pouco de água e o material obtido é coado em pano limpo ou peneira

fina. Em seguida, mistura-se essa suspensão em cerca de 200 L de água por hectare com vistas à aplicação terrestre. A pulverização deve ser realizada nas horas mais frescas do dia. De forma semelhante ao vírus da lagarta-da-soja, a eficiência também está condicionada ao correto monitoramento da população do inseto sendo que o nível de controle estabelecido é de cinco a sete lagartas pequenas (até 3 cm) por planta. A dose para pulverizar um hectare é de 8 lagartas grandes (7 a 9 cm de comprimento) mortas pelo vírus, ou 22 lagartas médias (4 a 6 cm), ou 30 lagartas pequenas (até 4 cm) (BATISTA FILHO et al., 2006).

### 3) Lagarta-do-cartucho do milho - *Spodoptera frugiperda*

A lagarta-do-cartucho é a principal praga da cultura do milho que vem sendo objeto de um programa desenvolvido pela Embrapa Milho e Sorgo utilizando um vírus de poliedrose nuclear.

As recomendações de uso seguem o padrão observado para os baculovírus. O monitoramento da população é fundamental sendo que o tamanho da lagarta não deve exceder 1,2 cm de comprimento. A aplicação em campo ainda é limitada (ALVES, 1998).

## Nematoides entomopatogênicos

Os nematoides *Steinernema* spp. e *Heterorhabditis* spp. são os únicos associados a insetos que são largamente utilizados para o controle de pragas. Possuem uma associação mutualística incomum que estabelecem com a bactéria *Xenorhabdus* e *Photorhabdus*, respectivamente, resultando invariavelmente na morte rápida dos insetos parasitados. Isso leva esses agentes a serem conhecidos como entomopatógenos e os tornam mais adequados para o controle biológico, se comparados aos outros grupos de nematoides, sendo utilizado com sucesso em muitos países para o controle de diversas pragas agrícolas (GAUGLER; KAYA, 1990; LEITE, 2006).

Entre as razões para o crescente interesse por tais nematoides, pode-se citar: i) possibilidade de criação massal *in vitro*, atualmente a custos tidos como economicamente viáveis; ii) compatíveis a muitos defensivos químicos e biológicos, podendo demonstrar ação sinérgica em misturas; iii) específicos para insetos, com comprovada eficiência no controle de certas espécies ou grupos de espécies, em destaque para as chamadas pragas de solo ou que passam parte do ciclo biológico no solo; iv) em muitos casos, comportamento de busca do hospedeiro; v) persistência por longos períodos no ambiente vi) não tóxico ao homem ou a animais domésticos e de interesse zootécnico; e vii) isenção de registro dos produtos biológicos formulados junto a Environmental Protection Agency (EPA), nos Estados Unidos, ou a organismos congêneres em vários outros países (FERRAZ, 1998; NGUYEN et al., 2010).

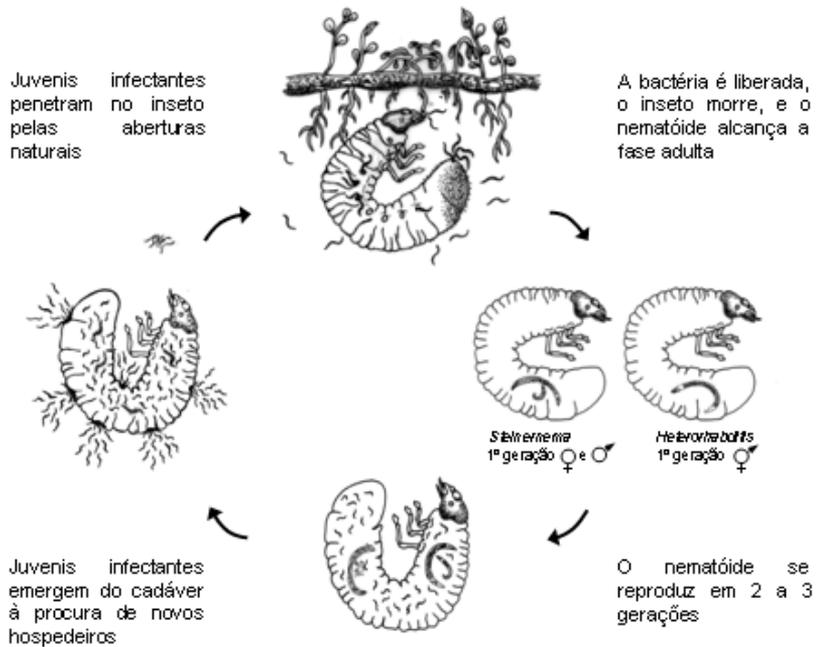
### Ciclo de vida

Os juvenis de terceiro estágio (infectivos) (Figura 1) dos nematoides esteinernematídeos e heterorhabditídeos não se alimentam e carregam suas bactérias mutualísticas específicas no intestino. Os juvenis infectivos (JI) invadem o corpo do hospedeiro através das aberturas naturais (boca, ânus e espiráculos) e liberam essas bactérias que se propagam e causam a morte rápida do inseto, em 48 horas. No caso específico do gênero *Heterorhabditis*, os JIs podem penetrar também diretamente pelo tegumento. Os nematoides se alimentam da bactéria e tecido hospedeiro, se reproduzem por 2 a 3 gerações e emergem dos cadáveres como juvenis infectivos para a procura de novos hospedeiros (FERRAZ, 1998) (Figura 2).



Foto: L. G. Leite, aumento 50 vezes

**Figura 1.** Juvenis infectivos do nematoide *Steinernema* sp. em meio de cultura artificial.



**Figura 2.** Ciclo biológico dos nematoides dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis*. Extraído de Ferraz et al., (2008).

## Produção de Steinernematidae e Heterorhabditidae

*Steinernema* spp. e *Heterorhabditis* spp. têm sido multiplicados *in vivo* e *in vitro*, sendo a primeira forma empregada para menor escala de produção e a segunda para maior escala, visando desde experimentos de campo à produção industrial.

A produção *in vivo* tem sido feita utilizando larvas de *Galleria mellonella* como hospedeira, sendo a forma mais usada para a manutenção do nematoide em laboratório, realização de bioensaios e para a produção comercial em biofábricas com escala de produção mais restrita.

A produção *in vitro* iniciou-se com o cultivo axênico, envolvendo apenas o nematoide como organismo, ganhando notoriedade; porém com o cultivo monoxênico, envolveu o nematoide em associação com a bactéria simbiote. Dentre os métodos de produção *in vitro* destacam-se os processos da esponja (meio sólido) (Figura 3) e de fermentação (meio líquido), os quais podem permitir elevados rendimentos do nematoide (BATISTA FILHO, 1996).

## Utilização

Progressos recentemente alcançados na tecnologia de produção massal e formulação, a descoberta de numerosos isolados, paralelamente à almejada redução no uso de pesticidas têm motivado o interesse de pesquisadores e de empresas comerciais por esses nematoides controladores de insetos. Levantamentos de nematoides entomopatogênicos têm sido conduzidos no mundo todo, contribuindo para a descoberta de muitas espécies novas e ampliando o número total de espécies para mais de 60 esteinernematídeos, e mais de 14 heterorhabditídeos. A combinação de características positivas alavancou decisivamente a produção comercial de produtos à base de tais nematoides/bactérias visando ao biocontrole de inse-

tos-pragas em gramados, em plantas ornamentais, na horticultura, na agricultura em geral, na silvicultura e até na saúde animal, na América do Norte, Europa e Ásia, durante os últimos quinze anos. Nessas regiões, em meados dos anos 90, mais de vinte produtos encontravam-se disponíveis no mercado (GREWAL et al., 2005; LEITE, 2006).

### **Estudos referentes ao Brasil**

No Brasil, o primeiro estudo com nematoide entomófago foi realizado por Travassos em 1927, transferindo a espécie *Aplectana krausseii* para um novo gênero por ele denominado de *Steinernema*. Em seguida, *Heterorhabditis hambletoni* foi originalmente encontrado atacando a broca-do-algodoeiro (*Eutinobothrus brasiliensis*) e descrito por C. Pereira em 1937 como pertencente ao gênero *Rhabditis*. Esse foi o primeiro registro do gênero *Heterorhabditis*. Depois destas constatações, apenas em 1985 foi encontrado o gênero *Steinernema* parasitando *Migdolus fryanus* em área de cultivo de cana-de-açúcar. Outra grande contribuição nos estudos com nematoides entomófagos foi dada por Ferraz e Monteiro em 1987, quando relataram o parasitismo de diferentes insetos considerados pragas de interesse no Brasil por mermitídeos do gênero *Hexameris* (MACHADO, 2006; TAVARES, 2006).

Paralelamente aos estudos de levantamento, outras pesquisas começaram a focar também no uso de alguns nematoides nativos e importados para o controle de pragas. Assim, o moleque-da-bananeira, *Cosmopolites sordidus*, foi estudado em 1992 pela Pesquisadora Áurea Tereza Schimitt com isolados de esteinernematídeos provenientes do estado de São Paulo. Ressalta-se ainda o bem sucedido programa de controle da vespa da madeira dos pinheiros nos estados do Sul pelo neotilenquídeo *B. siricidicola*, implementa-

do pela Embrapa Florestas a partir da década de 1990 até o presente (LEITE et al., 2004; SCHMITT et al., 1992).

Levantamentos mais recentes realizados por vários grupos de pesquisas no Brasil têm mostrado a incidência de nematoides entomopatogênicos em diversas regiões do país. Foram feitas as descrições de duas novas espécies: *Heterorhabditis amazonensis* (ANDALÓ et al., 2006) encontrado na região Amazônica, e *Steinernema brazilense* (NGUYEN et al., 2010) isolado de solo coletado no estado do Mato Grosso do Sul.

Alguns desses nematoides vem sendo usados também no desenvolvimento de programas para o controle de diversas espécie de insetos pragas (Tabela 1).

## **Desafios na produção**

Um dos motivos do sucesso no emprego dos nematoides entomopatogênicos como bioinseticidas é a possibilidade de produzi-los em larga escala. Esses nematoides foram cultivados pela primeira vez há mais de 70 anos, passando a ser produzidos em escala comercial somente nos últimos 20 anos com o aperfeiçoamento de três métodos de produção: *in vivo*, *in vitro* usando meio sólido e *in vitro* usando meio líquido (FERRAZ et al., 2008).

### **Produção *in vivo***

A produção *in vivo* usando inseto hospedeiro é considerada processo simples e de baixo custo, porém comporta limitações para a produção comercial em larga escala por ser também trabalhoso e requerer muita mão de obra (NEVES et al., 1999). O hospedeiro mais utilizado para esse fim é o lepidóptero conhecido como traça-das-colméias, *Galleria mellonella*, devido às facilidades de obtenção/criação e por sua alta suscetibilidade para nematoides.

**Tabela 1.** Alguns programas estabelecidos e em desenvolvimento com nematoídeos para o controle de insetos

Inseto alvo	Nematoíde	Instituição
Vespa da madeira, <i>Sirex noctilio</i>	<i>Deladenus siricidicola</i>	Embrapa Florestas, Colombo, PR
Gorgulho da cana-de-açúcar, <i>Sphenophorus levis</i> ; broca-da-coroa-foliar-do-dendê, <i>Eupatamides siparicias</i> ; broca-do-cupuacu, <i>Conotrachelus humeropicatus</i> ; gorgulho-da-goiaba, <i>Conotrachelus psidii</i> ; "fungus gnat", <i>Bradysia</i> sp.; larvas de escarabeídeos e outros insetos;	<i>Heterorhabditis indica</i> e <i>Steinernema</i> spp.	Instituto Biológico, Campinas, SP
Gorgulho da goiaba, <i>Conotrachelus psidii</i> ; e outros insetos;	<i>Heterorhabditis baujardi</i>	UFEN, Campos dos Goytacazes, RJ
Mosca-das-frutas, <i>Ceratitis capitata</i> ; lagarta-rosca, <i>Agrotis ipsilon</i> ; e outros insetos;	<i>Heterorhabditis</i> spp. e <i>Steinernema</i> spp.	Ufscar/Ca, Araras, SP
Cochonilha-da-raiz, <i>Dysmicoccus texensis</i> ; vaquinha, <i>Diabrotica speciosa</i> ; mosca-das-frutas; cigarra-do-cafeeiro, tripses, e outros insetos	<i>Heterorhabditis</i> spp. e <i>Steinernema</i> spp.	UFLA, Lavras, MG
Percevejo-castanho, <i>Scaptocoris</i> sp.; cupins e outros insetos	<i>Heterorhabditis</i> spp. e <i>Steinernema</i> spp.	UNESP/FCA, Botucatu, SP
Carrapato, <i>Boophilus microplus</i>	<i>Steinernema</i> spp.	Embrapa Gado de Leite, Coronel Pacheco, MG
Larvas de escarabeídeos	<i>Steinernema</i> spp. e <i>Heterorhabditis</i> spp.	Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS; Embrapa Pecuária Oeste, Dourados, MS
Lagarta-rosca, <i>Agrotis ipsilon</i>	<i>Steinernema</i> spp. e <i>Heterorhabditis</i> spp.	UFPEL, Pelotas, RS
Percevejo-castanho e larvas de escarabeídeos	<i>Steinernema feltiae</i> e <i>Steinernema scapterisci</i>	Fundação Mato Grosso, Rondonópolis, MS

Fonte: Ferraz et al., 2008.

Essa técnica ganhou destaque a partir da década de 1960, porém foi somente nos últimos anos que o processo passou a ser explorado para a produção comercial de nematoides, especialmente após o desenvolvimento da técnica designada LOTEK (GAUGLER et al., 2002), que se constitui basicamente em um conjunto de bandejas dispostas uma sobre a outra, dentro das quais são distribuídas centenas de larvas mortas do inseto com o nematoide. Atualmente, muitas empresas de pequeno e médio porte exploram a produção *in vivo*, sendo voltadas para nichos de mercado mais restritos e pouco visados pelas grandes empresas que realizam a produção *in vitro* (SHAPIRO-ILAN; GAUGLER, 2002).

### **Produção *in vitro***

As primeiras tentativas de produção *in vitro* de nematoides entomopatogênicos foram realizadas na década de 1930, quando Glaser (1931), embora com pouco sucesso, cultivou *S. glaseri* em meio sólido à base de carne de vitela, dextrose e ágar. Somente a partir da década de 1960, quando se esclareceu o papel fundamental das bactérias simbiotas (POINAR JUNIOR; THOMAS, 1966), é que a produção *in vitro* começou a ganhar real destaque, com o cultivo monoxênico proporcionando condições adequadas à reprodução dos nematoides e, conseqüentemente, um rendimento bastante elevado.

Outro grande avanço na produção massal *in vitro* de nematoides ocorreu na década de 1980 quando foram desenvolvidos os métodos da esponja (meio sólido) e de fermentação (meio líquido), decisivos à mais ampla utilização desse sistema de produção.

### *Método da esponja*

O método da esponja requer investimento, algo elevado na infraestrutura, mas o risco de falhas na produção dilui-se muito, restringindo-se a pequenas unidades. Outro aspecto levantado há algum tempo sobre o método foi que quando se faz a ampliação da escala de produção, os custos de mão de obra aumentam muito mais que os custos de capital tornando-o, portanto, mais vantajoso que a produção em meio líquido e adequado para uso em países em desenvolvimento, com custos de mão de obra mais baixos (EHLERS, 2001).

### *Método de fermentação*

O método de fermentação passou a ser boa alternativa para a ampliação da escala de produção de nematoides entomopatogênicos, já que pelo método da esponja deparava-se com limitações como aumento nos custos de mão de obra, necessidade de maiores espaços climatizados para a incubação das culturas e maiores gastos com o consumo de água, tanto na extração do nematóide como na eliminação de resíduos. (NEVES et al., 1999). A colheita do nematóide é facilitada e todo o resíduo descartado é material orgânico que irá se decompor (WOUTS, 1991). Como possível desvantagem, o rendimento obtido no geral é variável, existindo até risco de perda total na produção por uma eventual contaminação do meio, pois o cultivo é todo concentrado em um único compartimento, ou seja, no fermentador.

### **Formulação**

São várias as formulações de nematoides que vêm sendo estudadas ou utilizadas, incluindo carvão ativado, alginato de sódio, gel de poliacrilamida, iscas, turfa, esponja de poliuretano, vermiculita, pó molhável e grânulos dispersíveis em água (GEORGIS et al., 1995).

Tais formulações possuem tempos de prateleiras em torno de 2-3 meses, podendo chegar a 6 meses, o que requer estratégias de comercialização como o fornecimento por encomenda.

Mais recentemente vem sendo avaliada a possibilidade de aplicação de nematoides juntamente com o cadáver do inseto hospedeiro. Para isso, foi desenvolvida uma formulação de *H. bacteriophora* em larvas infectadas de *G. mellonella* (SHAPIRO-ILAN et al., 2001). Uma mistura de amido + argila aderiu-se ao cadáver e permitiu a sua dessecação sem afetar a reprodução do nematóide. Cadáveres com 4 dias após a morte do inseto foram mais adequados para dessecação do que aqueles com 8 dias.

A comercialização de nematoides em cadáveres poderá reduzir o custo de produção *in vivo* por eliminar a difícil etapa de colheita e formulação dos juvenis infectivos produzidos, podendo ainda facilitar o manuseio. Por outro lado, o armazenamento do produto pode ficar comprometido em virtude de menores chances de sobrevivência do nematóide dentro dos cadáveres, antes de alcançar a fase de juvenil infectivo.

## **Principais desafios comuns da produção e comercialização de entomopatógenos no Brasil**

### **Biofábricas**

A maioria das biofábricas do Brasil é artesanal, pois depende diretamente de mão-de-obra nem sempre qualificada, o que encarece o processo e não usam tecnologias envolvidas em Boas Práticas de Fabricação, tornando-as menos competitivas.

A automatização dessas biofábricas é ainda um grande desafio a ser vencido através do desenvolvimento de equipamentos específicos para fermentação sólida ou líquida, de acordo com as caracte-

terísticas de cada agente entomopatogênico e equipamentos para a formulação de produtos, evitando-se, nos dois casos, a contaminação por outros microrganismos. As biofábricas brasileiras precisam se capitalizar para aumentar o investimento em treinamento dos funcionários, desenvolvimento de equipamentos mais modernos, formulações e certificações como ISO 9001 e 14001, para maior credibilidade dos produtos; obviamente o registro no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA, também faz parte desse processo.

### **Seleção de isolados**

A seleção de isolados mais virulentos e produtivos é um desafio constante para o controle biológico com entomopatógenos no Brasil, pois está diretamente envolvido no processo de produção de bioinseticidas.

Isolados específicos para a praga-alvo é de grande importância num programa de controle biológico, principalmente para os fungos entomopatogênicos, pois além da virulência, os aspectos produtividade, produção de metabólitos secundários nocivos à saúde e ao ambiente e a resistência aos fatores climáticos são relevantes para a produção de bioinseticidas eficientes e seguros.

A manutenção de coleções de agentes entomopatógenos é de extrema necessidade para o desenvolvimento de bioinseticidas e é outro desafio nesse processo, pois está envolvido um importante fator legislativo, que regula, entre outros, a anuência e a repartição de benefícios com os “proprietários” da cepa.

### **Padronização analítica**

As análises qualitativas e quantitativas, relacionadas à concentração, viabilidade, pureza e virulência ou potência para entomopatógenos ainda não estão padronizadas em todos os aspectos, por exemplo: análise direta, por câmara de Neubauer, ou indireta, como Unidades Formadoras de Colônias. Talvez para bactérias entomo-

patogênicas tem-se algum avanço, mas para os demais agentes não se tem conceitos definidos quanto a esses parâmetros.

Com relação à pureza, a metodologia não está bem definida para nenhum deles e ainda não se conhece os principais contaminantes desses bioinseticidas. Seria necessário um estudo mais aprofundado a respeito desses contaminantes e os problemas que podem causar ao homem e ao ambiente.

No caso da virulência, faz-se necessária a determinação de insetos testes para que se possa avaliar a potência do isolado utilizado.

### **Legislação**

A legislação tornou-se um desafio para o desenvolvimento de bioinseticidas à base de entomopatógenos no Brasil, por causa da inexistência de uma legislação própria, tanto na parte de registros como no que se refere ao uso de isolados desses agentes entomopatogênicos, por causa da proteção do patrimônio genético nacional.

No que se refere ao uso do patrimônio genético brasileiro, o que foi criado em termos de legislação foi a Medida Provisória 2.186-56/2001, que apesar de tratar de tudo referente ao patrimônio genético, aborda a repartição de recursos para as partes - proprietário do local onde foi coletada a amostra, até o produtor do bioinseticida - mas não é clara quanto a isso, e por esse motivo, o Ministério do Meio Ambiente - MMA, por meio do colegiado específico que se refere ao uso do patrimônio genético – o CGEN, tem criado cada vez mais novas resoluções. Seria necessária uma discussão mais aprofundada a respeito do conteúdo dessa Medida Provisória, procurando melhores esclarecimentos dos pontos obscuros dessa legislação. Seria ideal a formulação de uma lei do patrimônio genético, tomando-se por base a atual e realizando-se um projeto de lei específico, para que se possa haver uma discussão mais democrática, através da Câmara e do Senado brasileiros. A partir daí, a

implantação da nova lei deveria ser através de medidas educativas inicialmente, até o uso de medidas punitivas para aqueles que não se enquadrarem após o prazo desse trabalho de preparação da sociedade como um todo.

A Lei dos Agrotóxicos No. 7802 de 11/07/1989 dispõe sobre a pesquisa, experimentação, produção, embalagem, transporte, armazenamento, comercialização, propaganda, utilização, importação, exportação, descarte de embalagens, classificação, controle, fiscalização e o registro de agrotóxicos e afins no Brasil; praticamente envolveu todo o processo, mas foi criada principalmente para os produtos químicos, pois os bioinseticidas se encaixam na palavra “afins” desta lei.

Desse modo, quando os produtos biológicos começaram a ser comercializados com maior frequência, a partir do início dessa década, o MAPA, responsável pelo registro desses produtos, passou a exigir o registro de produtos biológicos, porém utilizando as mesmas exigências dos químicos, o que tornou o processo moroso e caro para as pequenas empresas produtoras de bioinseticidas.

Em 2006, foi criada a Instrução Normativa Nº 3 de 10/03/2006 para ajudar no registro de bioinseticidas, pois o registro de um agrotóxico começa no MAPA, mas vai para o IBAMA do MMA e para a ANVISA do Ministério da Saúde, procurando resolver todas as necessidades de informações sobre o produto a ser registrado, mas com testes menos rigorosos usados para os produtos químicos. Mesmo assim, o registro ficou muito lento, levou de 2 a 3 anos e teve o custo alto, em torno de US\$ 60.000,00.

Seria importante aumentar a discussão sobre o registro de produtos biológicos, criando uma lei específica para tais produtos e análises mais baratas, procurando ajustar a necessidade de informações sobre o produto com a sua natureza biológica, pois muitos testes usados ainda hoje são desnecessários. Paralelamente, seria também

importante o estudo e o desenvolvimento de análises de impacto de produtos biológicos sobre o ambiente, animais e o homem.

### Considerações finais

O uso de microrganismos entomopatogênicos no controle de pragas tem crescido à medida em que cresce o interesse por uma agricultura sem o uso de defensivos químicos e a preservação do ambiente. Portanto, de uma maneira prática, é cada vez maior o número de projetos neste tema, envolvendo as mais diversas culturas, tais como as grandes commodities ou até plantas medicinais de alto valor agregado.

O interesse pela produção de bioinseticidas à base de fungos, bactérias e vírus também tem aumentado, fazendo com que o setor da pesquisa invista em novas técnicas de produção e formulação, além de trabalhos de eficiência em laboratório e campo. As empresas com interesse nesse mercado acompanham essa tendência, criando novas oportunidades de emprego, gerando renda e protegendo o meio ambiente, por se tratar de tecnologia com baixo risco.

### Referências

ALMEIDA, J. E. M. Como controlar. **Revista Cultivar**: Grandes Culturas, Pelotas, v. 15, n. 177, p. 30-31, 2014.

ALMEIDA, J. E. M.; BATISTA FILHO, A. **Controle biológico da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar com o fungo *Metarhizium anisopliae***. São Paulo: Instituto Biológico, 2006. 19 p. (Instituto Biológico. Boletim Técnico, 16).

ALMEIDA, J. E. M.; BATISTA FILHO, A.; ALVES, S. B.; LEITE, L. G.; NEVES, P. M. O. J. Formulação de entomopatógenos na América Latina. In: ALVES, S. B.; LOPES, R. B. ed. **Controle microbiano de pragas na América Latina**. Piracicaba: FEALQ, 2008, p. 257-277.

ALMEIDA, J. E. M.; BATISTA FILHO, A.; COSTA, V. A.; LEITE, L. G.; RAMIRO, Z. A.; RUSSOMANO, O. M. R.; KRUPPA, P. C.; CALIL, E. M. B. **Manejo integrado de pragas e doenças das culturas**: pastagens. Campinas: CECOR-CATI, 2000, v. 1, p. 50.

ALMEIDA, J. E. M.; BATISTA FILHO, A.; SANTOS, A. S. Controle da cigarrinha da raiz da cana-de-açúcar, *Mahanarva fimbriolata*, com o fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae*. **STAB**: Açúcar, Álcool e Subprodutos, Piracicaba, v. 22, n. 4, p. 42-45, 2004.

ALMEIDA, J. E. M.; BATISTA FILHO, A.; SANTOS, A. S.; LEITE, L. G.; ALVES, S. B. Controle da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar, *Mahanarva fimbriolata* (Hem.; Cercopidae), em cana cultivada no sistema orgânico. **STAB**: Açúcar, Álcool e Subprodutos, Piracicaba, v. 22, n. 2, p. 34-37, 2003.

ALVES, S. B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ. 1998. 1163 p.

ALVES, S. B.; LOPES, R. B. (Ed.). **Controle microbiano de pragas na América Latina**. Piracicaba: FEALQ, 2008. 414 p.

ALVES, L. F. A.; NEVES, P. M. J. O.; FARIA, M. R. (Coord.). **Recomendações para utilização de fungos entomopatogênicos no controle de pragas**. Piracicaba: CP 2, 2010. 52 p.

ANDALÓ, V.; NGUYEN, K. B.; MOINO JUNIOR, A. *Heterorhabditis amazonensis* n. sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae) from Amazonas, Brazil. **Nematology**, Leiden, v. 8, n. 6, p. 853-867, 2006.

BATISTA FILHO, A. **Desenvolvimento de formulações de *Baculovirus anticarsia***. 1997. 86 f. Tese (Doutorado em Ciências, Área de Concentração em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”/USP, Piracicaba.

BATISTA FILHO, A. Produção de nematoides entomopatogênicos “in vitro”. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 63, n. 1, p. 91-97, 1996.

BATISTA FILHO, A.; ALVES, L. F. A.; ALMEIDA, J. E. M.; LEITE, L. G.; MACHADO, L. A.; COSTA, V. A.; SATO, M. E.; PERIOTO, N. W.; LARA, R. I. R. **Controle biológico de insetos e ácaros**. São Paulo: Instituto Biológico, 2006. 85 p. (Instituto Biológico. Boletim Técnico, 15).

BATISTA FILHO, A.; CRUZ, B. P. B. Controle microbiano de pragas da soja. **O Biológico**, São Paulo, v. 53, n.7/12, p. 75-78, 1987.

BATISTA FILHO, A.; LEITÃO, A. E. F.; SATO, M. E.; LEITE, L. G.; RAGA, A. Efeito da associação *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. com óleo mineral, na mortalidade de *Cosmopolites sordidus* Germar (Coleoptera; Curculionidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 23, n. 3, p. 379-383, 1994.

BATISTA FILHO, A.; LEITE, L. E.; RAGA, A.; SATO, M. E. Enhanced activity of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. associated with mineral oil against *Cosmopolites sordidus* (Germar) adults. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 405-408, 1995.

BATISTA FILHO, A.; LEITE, L. E.; RAGA, A.; SATO, M. E. Virulência de diferentes isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. à *Cosmopolites sordidus* Germar, 1824. In: **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 56, p. 46, 1989. Suplemento. Edição dos anais da II Reunião Anual do Instituto Biológico, São Paulo, 1989.

CAPALBO, D. M. F.; MORAES, I. de O. **Produção de inseticida biológico com *Bacillus thuringiensis***. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1987. 15p. (EMBRAPA-CNPDA. Boletim de Pesquisa, 1).

CAPALBO, D. M. F.; MORAES, I. de O.; ARANTES, O. M. N.; REGIS, L. N.; VEJA, O. F.; BENINTENDE, G. B.; GUIMARÃES, S. E.; ARRUDA, R. O. M.; MORAES, R. O. Produção de bactérias entomopatogênicas na América Latina. In: ALVES, S. B.; LOPES, R. B. (Ed.). **Controle microbiano de pragas na América Latina**. Piracicaba: FEALQ, 2008. p. 239-256.

EHLERS, R.-U. Mass production of entomopathogenic nematodes for plant protection. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Heidelberg, v. 56, n. 5-6, p. 623-633, 2001.

FERRAZ, L. C. C. B. Nematóides entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 541-569.

FERRAZ, L. C. C. B.; LEITE, L. G.; LOPES, R. B.; MOINO JÚNIOR, A.; DOLINSKI, C. Utilização de nematoides para o controle de pragas agrícolas e urbanas. In: ALVES, S. B.; LOPES, R. B. (Ed.). **Controle microbiano de pragas na América Latina**. Piracicaba: FEALQ, 2008, p. 171-202.

FERRAZ, L. C. C. B.; MONTEIRO, A. R. Sobre a ocorrência de mermitídeos parasitando insetos no Brasil. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 11, n. 1, p. 29-30, 1987.

GAUGLER, R. (Ed.). **Entomopathogenic Nematology**. New York: CABI, 2002. 400 p.

GAUGLER, R.; BROWN, I.; SHAPIRO-ILAN, D.; ATWA, A. Automated technology for *in vivo* mass production of entomopathogenic nematodes. **Biological Control**, Orlando, v. 24, n. 2, p. 199-206, 2002.

GAUGLER, R.; KAYA, H. K. (Ed.). **Entomopathogenic nematodes in biological control**. Boca Raton: CRC, 1990. 365 p.

GEORGIS, R.; DUNLOP, D. B.; GREWAL, P. S. Formulation of entomopathogenic nematodes. In: HALL, F. R.; BARRY, J. W. (Ed.). **Biorational Pest Control Agents: Formulation and Delivery**. Bethesda: American Chemical Society, 1995. p. 197-205.

GLASER, R. W. The cultivation of a nematode parasite of an insect. **Science**, Washington, DC, v. 73, n. 1901, p. 614, 1931.

GREWAL, P. S.; EHLERS, R. U.; SHAPIRO-ILAN, D. I. (Ed.). **Nematodes as biocontrol agents**. New York: CABI, 2005. 505 p.

NGUYEN, K. B.; GINARTE C. M. A.; LEITE, L. G.; SANTOS, J. M.; HARAKAVA R. *Steinernema brazilense* n. sp. (Rhabditida: Steinernematidae), a new entomopathogenic nematode from Mato Grosso, Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v. 103, n. 1, p. 8-20, 2010.

LEITE, L. G. Nematoides entomopatogênicos. In: BATISTA FILHO, A.; ALVES, L. F. A.; ALMEIDA, J. E. M.; LEITE, L. G.; MACHADO, L. A.; COSTA, V. A.; SATO, M. E.; PERIOTO, N. W.; LARA, R. I. R. **Controle biológico de insetos e ácaros**. São Paulo: Instituto Biológico, 2006. 85 p. (Instituto Biológico. Boletim Técnico, 15). p. 42-51.

LEITE, L. G.; BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J. E. M.; ALVES, S. B. (Ed.). **Produção de fungos entomopatogênicos**. Ribeirão Preto: Sene, 2003. 96 p.

LEITE, L. G.; BATISTA FILHO, A.; OLIVEIRA, S. M. Infectividade do fungo *Sporothrix insectorum*, na forma de corpos hifais, contra o percevejo de renda da seringueira. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 6, 1998, Rio de Janeiro. **Anais: sessões de pôsteres**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 1998 p. 138.

LEITE, L. G.; MACHADO, L. A.; GINARTE, C. M. A. Nematoides contra os insetos. **Cultivar**, Pelotas, v. 6, n. 64, p. 12-15, 2004.

MACHADO, L. A. **Estudos biológicos e comportamentais de *Migdolus fryanus* (Westwood, 1863) (Coleoptera: Vesperidae) e sua interação com nematoides entomopatogênicos, e outros agentes de mortalidade**. 2006. 119 f. Tese (Doutorado em Parasitologia) - Instituto de Biologia, UNICAMP, Campinas.

MICHEREFF FILHO, M.; FARIA M.; WHRAIGHT, S. P.; SILVA, K. F. S. A. Micoínseticidas e micoacaricidas no Brasil: como estamos após quatro décadas? **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 76, n. 4, p. 769-779, 2009.

MOSCARDI, F. **Utilização de Baculovirus anticarsia para o controle da lagarta da soja, *Anticarsia gemmatalis***. Londrina: EMBRAPA-CNPQ, 1983. 21p. (EMBRAPA-CNPQ. Comunicado Técnico, 23).

MOSCARDI, F.; SANTOS, B. Produção comercial de nucleopoliedrovírus de *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lep.: Noctuidae) em laboratório. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 9., 2005, Recife. **Anais...** Recife: CPqAM: Fiocruz, 2005. p. 43.

NEVES, J. M.; SIMÕES, N.; MOTA, M. Nematodes entomopatogénicos: uso e novas perspectivas. **Boletim de Biotecnologia**, Lisboa, v. 64, p. 23-29, 1999.

PAVAN, O. H. O. Uso de viroses no controle de pragas. In: ATUALIZAÇÃO sobre os métodos de controle de pragas. Piracicaba: ESALQ, 1986. pág. 48-50.

PEREIRA, C. *Rhabditis hambletoni* n. sp. nema aparentemente semiparasito da "broca do algodoeiro" (*Gasterocercodes brasiliensis*). **Archivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 8, n. 25, p. 215-230, 1937.

POINAR JUNIOR, G. O.; THOMAS, G. M. Significance of *Achromobacter nematophilus* Poinar and Thomas (Achromobacteriaceae: Eubacteriales) in the development of the nematode, DD-136 (*Neoplectana* sp., Steinernematidae). **Parasitology**, London, v. 56, n. 2, p. 385-390. 1966.

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**, Auburn, v. 22, n. 2, p. 159-163, 1992.

SHAPIRO-ILAN, D.; GAUGLER, R. Production technology for entomopathogenic nematodes and their bacterial symbionts. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, Heidelberg, v. 28, n. 3, p. 137-146, 2002.

SHAPIRO-ILAN, D.; LEWIS, E. E.; BEHLE, R. W.; MCGUIRE, M. R. Formulation of entomopathogenic nematode-infected cadavers. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v. 78, n. 1, p. 17-23, 2001.

TAVARES, F. M. **Avaliação de nematoides entomopatogénicos contra o bicudo da cana-de-açúcar *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978, e efeito da associação desses agentes com inseticidas químicos**. 2006. 61 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp, Botucatu.

WOUTS, W. M. *Steinernema (Neoplectana)* and *Heterorhabditis* species. In: NICKLE, W. R. (Ed.). **Manual of agricultural nematology**. New York: Marcel Dekker, 1991. p. 855-897.

## Desafios da Produção e Comercialização de Parasitoides para o Controle de Pragas no Brasil

José R. P. Parra e Alexandre de S. Pinto

---

### Introdução

O início dos estudos de Entomologia Aplicada no Brasil foi bastante influenciado por agroquímicos, diferentemente de outros países na América Latina, que foram iniciados por Universidades americanas que enfatizavam o Controle Biológico. Países como Peru, Colômbia, Venezuela, Chile, dentre outros, foram treinados, nos primórdios do século passado, por pesquisadores da Universidade da Califórnia (Berkeley e Riverside), considerada o “berço do Controle Biológico”. Portanto, existe um problema cultural de aceitação do Controle Biológico em nosso país. Como consequência, a imensa biodiversidade brasileira é ainda pouco conhecida, explorada e utilizada.

Estabeleceu-se, na literatura entomológica, como início do Controle Biológico, o ano de 1889, que correspondeu a um ano após a introdução, em 1888, de *Rodolia cardinalis* (Coleoptera: Coccinellidae), da Austrália, para controlar, com sucesso, *Icerya purchasi* (Hemiptera: Margarodidae), nos EUA, Califórnia. Um Congresso, realizado na Universidade da Califórnia, em 1989, “marcou” um século de Controle Biológico, iniciado, portanto, com o Controle Biológico Clássico.

No Brasil, a primeira introdução de um agente de Controle Biológico foi feita em 1921, com a importação, dos EUA, de *Encarsia*

(=*Prospaltella*) *berlesi* (Hymenoptera: Aphelinidae) para controlar a cochonilha-do-pêssego, *Pseudaulacaspis pentagona* (Hemiptera: Diaspididae), portanto, 32 anos após o “início” do Controle Biológico.

Seguiu-se um período, a partir da síntese do DDT em 1939, considerado por Kogan (1998) como o “período negro” do controle de pragas, em que praticamente só se fez controle químico na agricultura mundial. Foi necessário alguém chamar a atenção para esta aplicação indiscriminada de produtos químicos, que levou a inúmeros problemas, sobejamente conhecidos, incluindo resistência de insetos e ácaros a inseticidas; aparecimento de novas pragas, antes secundárias; desequilíbrios biológicos; ressurgência de pragas; efeitos prejudiciais ao homem, a inimigos naturais, peixes e outros animais; resíduos nos alimentos, água e solo. Foi Rachel Carson, com o livro “Primavera Silenciosa”, publicado em 1962, quem chamou a atenção, de forma criteriosa e contundente, de tais problemas, gerados pelo uso indiscriminado de produtos químicos na agricultura. Este livro foi o grande responsável pelo surgimento de uma nova filosofia de controle de pragas, o MIP (Manejo Integrado de Pragas), que é um conjunto de medidas que visa manter as pragas abaixo do nível de dano econômico, levando-se em conta não somente critérios econômicos, mas considerando-se também critérios ecológicos e sociais, e que utiliza, além do controle químico, alternativas de controle, com ênfase ao Controle Biológico e feromônios. Foi a partir daí que, verdadeiramente, iniciou-se o Controle Biológico Aplicado (ou Aumentativo) em nosso país.

O Brasil tem um problema adicional que é o tipo de agricultura, com extensas áreas plantadas de soja, algodão, milho, cana-de-açúcar, trigo, arroz, pastagens, café, dentre outros. Somos, sem dúvida, líderes em Agricultura Tropical, pois desenvolvemos uma tecnologia própria. Chegamos aos 187 milhões de toneladas de grãos em 2012/2013, (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO,

2013) com um pequeno acréscimo de área plantada nos últimos anos, conseguindo tal incremento de produção às custas da tecnologia aqui desenvolvida. Entretanto, este tipo de agricultura de grandes áreas, às vezes com um único agricultor plantando 20.000 a 30.000 hectares de uma única cultura, é perversa para o Controle Biológico e inviabiliza algumas operações, como o monitoramento de pragas, para utilização de Controle Biológico ou mesmo feromônios e outras medidas alternativas de controle. Assim, como desenvolvemos uma tecnologia própria para a Agricultura Tropical, temos que desenvolver uma tecnologia própria para utilização, em larga escala, de Controle Biológico nos trópicos.

O presente artigo trata dos desafios para a produção e comercialização de agentes de Controle Biológico de pragas no Brasil, com ênfase em parasitoides.

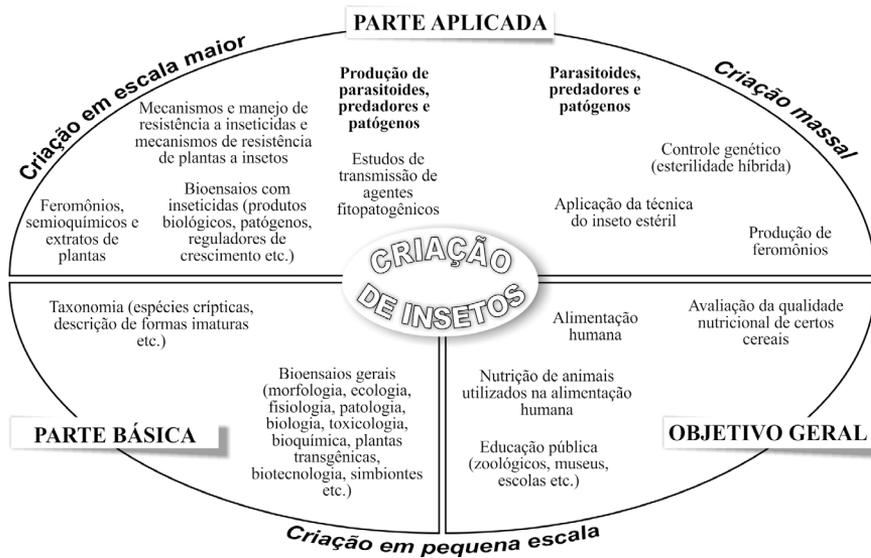
### **Produção de inimigos naturais**

O início do Controle Biológico no mundo se deu com as “liberações inoculativas” de agentes de controle biológico, desde que no chamado Controle Biológico Clássico liberavam-se pequenas quantidades de insetos, pois não se dispunham de técnicas de criação para a produção de grandes números de inimigos naturais. Portanto, era uma limitação do Controle Biológico; assim, o Controle Biológico era restrito a culturas perenes ou semi-perenes, dando chance a que os inimigos naturais aumentassem com o passar do tempo; dessa forma, era uma medida de controle em longo prazo, outra limitação do método.

O Controle Biológico Clássico deixou de ser utilizado durante o “período negro” do Controle Químico de controle de pragas, anteriormente mencionado, e ressurgiu com a adoção do MIP. O próprio

Controle Biológico Natural ou Conservativo passou a ter maior importância, especialmente com a utilização de produtos seletivos e com a preocupação do Manejo da Resistência.

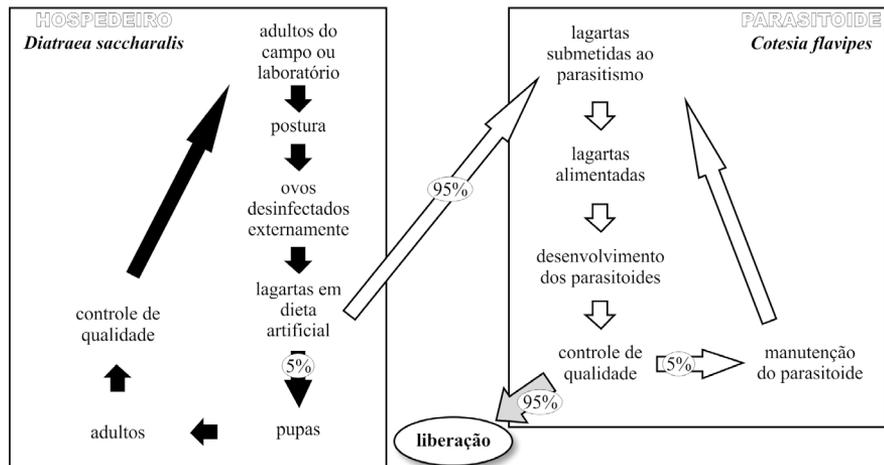
Entretanto, para a implementação do MIP foram necessários avanços na área de criação, especialmente com insetos sendo criados em dietas artificiais, principalmente os representantes das ordens Lepidoptera, Coleoptera e Diptera (BUENO, 2000, 2009; COHEN, 2004; MOORE, 1985; PARRA, 2002, 2008, 2009; SCHNEIDER, 2009; SINGH, 1977, 1985; SMITH, 1966). Assim, ao lado das pequenas criações de insetos, utilizadas para pesquisa, surgiram as criações intermediárias e as massais, estas últimas inicialmente subvencionadas pelo governo e, posteriormente, por empresas privadas, principalmente para inimigos naturais. Desta forma, o Controle Biológico passou a ter maior credibilidade, pois como as liberações passaram a ser “inundativas”, os resultados de controle passaram a ser mais rápidos e mais facilmente aceitos pelos agricultores, acostumados com respostas imediatas, com a utilização de agroquímicos. A evolução na área de criação de insetos é uma realidade no mundo moderno, e foi importante para várias áreas da Entomologia (Figura 1), mas foi para o Controle Biológico Aplicado, onde são necessárias criações massais, ou seja, produção de milhões de insetos, que se pôde constatar os maiores avanços (Figura 1).



**Figura 1.** Relação entre criações de insetos e as diversas áreas da entomologia (PARRA, 2002).

No Brasil, o avanço na área de Controle Biológico se deveu ao treinamento de estudantes em cursos formais de Pós-Graduação em Entomologia, que se iniciaram em 1964, e aqueles treinados em Controle Biológico representam hoje cerca de 25% da massa crítica formada, incluindo mestres e doutores, atualmente integrados numa Sociedade (Sociedade Entomológica do Brasil), com um número de sócios comparável às maiores Sociedades de Entomologia do mundo, distribuídos por todo o país.

Foi um processo gradual, cuja primeira fase foi o treinamento citado; a segunda fase, a mudança de mentalidade, ou seja, “criar” e não “matar insetos”, como era a regra dominante até então; e a terceira fase foi o aperfeiçoamento de técnicas de criação de inimigos naturais no país. Muitas vezes é difícil criar uma espécie de inseto. No caso de Controle Biológico, é necessária a criação de duas espécies de insetos, a praga visada e o inimigo natural (Figura 2).

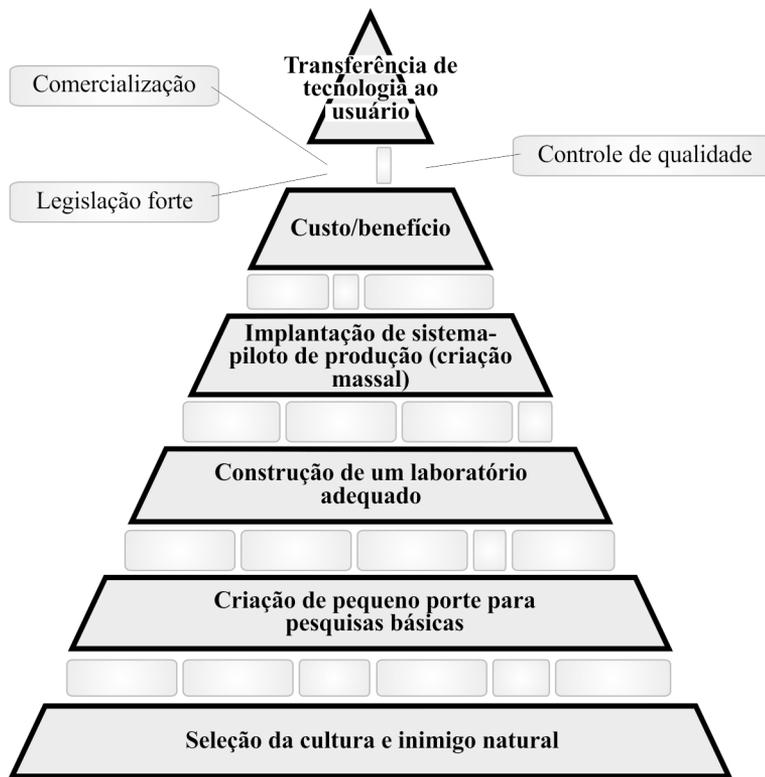


**Figura 2.** Esquema de produção de *Cotesia flavipes* em *Diatraea saccharalis*, criada sobre dieta artificial em laboratório (PARRA, 2002).

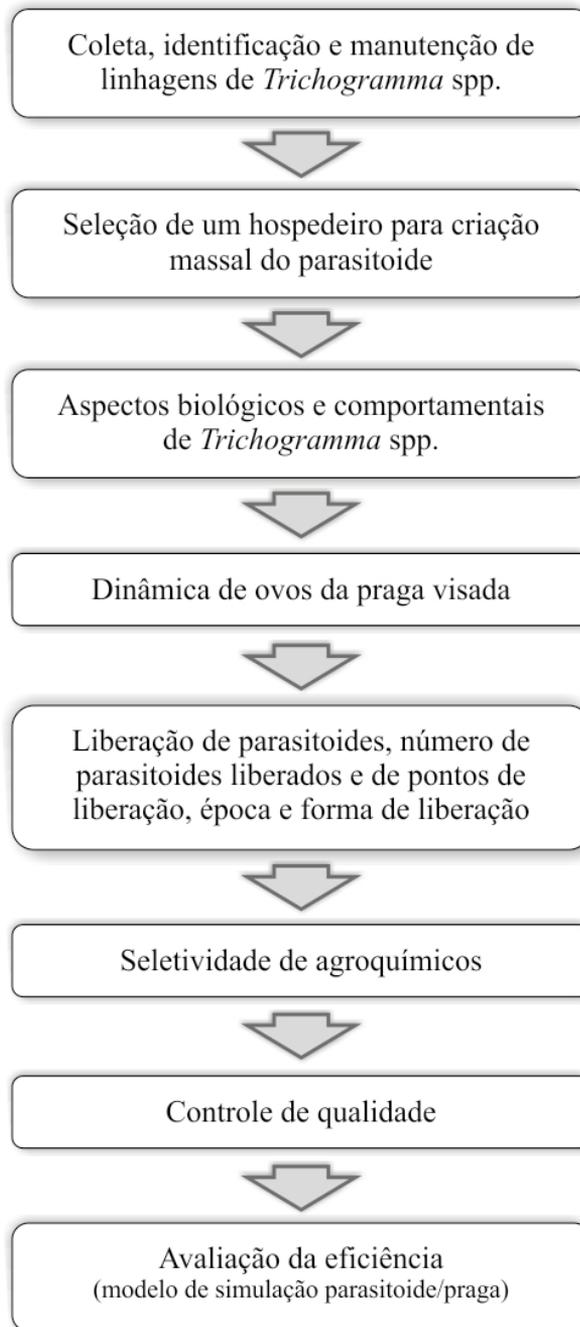
Para parasitoides, diferentemente de predadores, há necessidade de se criar o hospedeiro natural, pois são poucos os casos [como *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e alguns Tachinidae (Diptera)] em que é possível a criação dos inimigos naturais em hospedeiros alternativos. A criação de uma dieta artificial para parasitoides (criação *in vitro*), tão pesquisada a partir da década de 1980, frustrou os entomologistas e não surtiu os resultados esperados (CÔNSOLI; GRENIER, 2010; CÔNSOLI; PARRA, 2002), embora com bons resultados no país para *Trichogramma* spp. (CÔNSOLI; PARRA, 1996a, 1996b; DIAS et al., 2010) e *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) (MAGRO et al., 2006).

Portanto, para iniciar a produção de um inimigo natural há necessidade de uma série de eventos a serem considerados (Figura 3). Deve ser iniciado com estudos de tabelas de vida, para se detectar o fator chave de crescimento populacional. Deve ser um programa interdisciplinar e, portanto, com especialistas de diferentes áreas

(PARRA, 2010a; PARRA et al., 2002) e exigindo estudos da influência de fatores bióticos e abióticos da praga e do agente de controle biológico, incluindo estudos de acasalamento, oviposição, alimentação de adultos, diapausa (fatores bióticos) e efeito da temperatura, umidade relativa do ar, luz, CO<sub>2</sub> e aeração (fatores abióticos). As principais etapas de um programa de Controle Biológico são listadas na Figura 4.



**Figura 3.** Sequência para viabilização de um programa de Controle Biológico (PARRA et al., 2002).

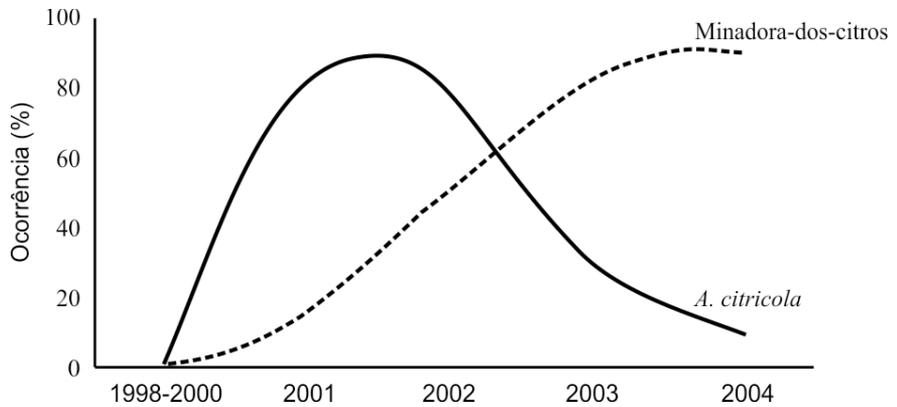


**Figura 4.** Etapas a serem cumpridas num programa de Controle Biológico envolvendo o parasitoide de ovos *Trichogramma* spp. (PARRA et al., 2002).

Na medida que se muda a escala das criações, passando de criações de pesquisa para criações massais, os problemas de sanidade, custos (mão-de-obra), qualidade dos insetos produzidos e armazenamento aumentam exponencialmente, pois a mão-de-obra, principalmente, representa 80% do custo de produção e isto, muitas vezes, limita o processo, exigindo automação do sistema de criação.

Embora tenhamos excelentes resultados em cana-de-açúcar, com controle das pragas aéreas em quase 50% da área plantada no Brasil, ainda existe muita coisa a ser feita em outras culturas, visto que há muito amadorismo em nossas criações de inimigos naturais, pois são programas a longo prazo e que demandam recursos e políticas governamentais para sua continuidade. É o caso do programa de *Trichogramma* para o controle de pragas agrícolas, iniciado na década de 1980, mas apenas a partir de 2000 começou a ser utilizado na grande prática (CÔNSOLI et al., 2010; PARRA; ZUCCHI, 2004).

São mais fáceis os programas de Controle Biológico Clássico, pois demandam menores investimentos, como é o caso de *Ageniaspis citricola* (Hymenoptera: Encyrtidae), importado dos EUA (embora seja originária da Ásia) para o controle de *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). Essa praga foi relatada no Brasil em 1996, e entre 1998 e 2000 foi controlada pelo parasitoide citado, com uma produção de pouco mais de um milhão de parasitoides (PARRA et al., 2004) (Figura 5).



**Figura 5.** Alteração da dinâmica populacional da minadora-dos-citros após a liberação de *Aeniaspis citricola* (PARRA et al., 2004).

Com a massa crítica formada em Controle Biológico no Brasil, já existem grupos organizados estudando inimigos naturais em vários estados brasileiros.

### **Comercialização, armazenamento e transporte de inimigos naturais**

As razões da pequena utilização de Controle Biológico no Brasil poderiam ser assim sumariadas (PARRA, 2006):

- » tradição do agricultor;
- » credibilidade;
- » especificidade do agente de controle biológico;
- » conhecimento tecnológico sobre a praga e o inimigo natural;
- » disponibilidade do insumo biológico (comercialização);
- » qualidade do inimigo natural produzido;

- » transferência da tecnologia;
- » seletividade de agroquímicos para os inimigos naturais;
- » predação dos agentes liberados;
- » tecnologia de liberação e fatores ecológicos;
- » falta de estudos do custo/benefício.

Na verdade, existe muita desinformação sobre o assunto Controle Biológico, e o agricultor está acostumado a aplicar o agroquímico (tradição), e outras vezes foi mal informado ou recebeu um produto biológico de má qualidade, o que o faz desacreditar desta medida alternativa (credibilidade, qualidade do insumo biológico). O usuário deve saber que o produto é específico e, por este motivo, pode optar por um agroquímico de largo espectro. Muitas vezes, não há assessoria e o fazendeiro recebe informações erradas ou incompletas (transferência de tecnologia) sobre a forma de liberação (tecnologia de liberação) e em que hora do dia liberar o inimigo natural (fatores ecológicos). Outras vezes, não há suficiente conhecimento tecnológico sobre o agente de Controle Biológico, qual o produto que pode ser aplicado sem afetar o inimigo natural (seletividade) ou se vai ocorrer a predação quando é realizada a liberação do inimigo natural, predação esta muito mais frequente nas regiões tropicais, como o Brasil, em relação a países subtropicais e de clima temperado. Mas é óbvio que o agricultor quer ter lucros e o Controle Biológico tem que ser economicamente viável (custo/benefício), e nem sempre existem tais estudos comprobatórios.

Mas, de um modo geral, o grande problema é a falta do agente de Controle Biológico, pois muitos gostariam de usar esses agentes ao invés de agroquímicos. Portanto, a disponibilidade de agentes de Controle Biológico (comercialização) é o grande gargalo. São

ainda poucas as empresas que comercializam os agentes de Controle Biológico no Brasil e são, de modo geral, pouco profissionais. Existiam 11 espécies de inimigos naturais (insetos e ácaros) (PARRA, 2010b) comercializadas no Brasil até 2010, mas com a intensificação da fiscalização das empresas exigindo o registro desses insumos, hoje apenas nove estão disponíveis. No mundo, existem cerca de 230 espécies disponíveis (LENTEREN, 2012), sendo 219 artrópodes, 1 Mollusca e 10 Nematoda. São cerca de 120 espécies de Hymenoptera (52,2%), 30 de Acari (13,1%), 28 de Coleoptera (12,2%) e 19 espécies de Hemiptera (8,3%) disponíveis para comercialização. Entretanto, a área mundial utilizada é ainda pequena (LENTEREN, 2012), com um mercado de cerca de 220 milhões de dólares e uma margem de lucro média de 3-4% (COCK et al., 2010). Na Europa, as liberações são feitas em áreas fechadas (casas-de-vegetação). Portanto, a despeito de serem muitas vezes até empresas multinacionais que comercializam tais insumos, elas ainda não têm tecnologia para ser transferida para uma Agricultura Tropical como a nossa, principalmente tratando-se de parasitoides e/ou predadores.

Dois outros aspectos a serem considerados na comercialização de agentes de Controle Biológico são o transporte e o armazenamento. Estes dois itens são mais estudados para microrganismos (patógenos), existindo poucas informações para macrorganismos. Estes problemas se agravam no Brasil, não só pela falta de estudos, mas principalmente pela diferente logística de armazenamento e transporte a ser adotada no nosso país, considerando-se a sua extensão territorial (Figura 6).



**Figura 6.** Relação entre as dimensões territoriais do Brasil com alguns países europeus.

Estudos de exigências térmicas, utilizando-se a constante térmica (K) expressa em graus-dia, são fundamentais para a produção e previsão de emergência quando o material está sendo enviado ou mesmo armazenado (PARRA, 2010a). Em outros países, especialmente na França, costuma-se induzir a diapausa em espécies de *Trichogramma*, quando o inseto não está sendo utilizado, “quebrando-a” quando for necessária a utilização e liberação do parasitoide em campo. As nossas espécies, em São Paulo, não apresentam

diapausa (ROSSI, 1997), havendo necessidade de estudos para outras regiões do Brasil sobre tais interrupções de desenvolvimento de inimigos naturais em geral.

Um dos aspectos mais importantes do parasitoide ou predador produzido é a sua “qualidade”, ou seja, competitividade com o inseto da natureza (LENTEREN, 2003). É fundamental, independente da forma de armazenamento escolhida (limiar térmico inferior de desenvolvimento, geladeira, outras temperaturas baixas ou em nitrogênio líquido), saber que o metabolismo do estágio do inseto armazenado é diminuído e a qualidade pode ser afetada. Não são muitos os estudos conduzidos no Brasil sobre o assunto.

Alguns exemplos de armazenamento podem ser citados a seguir, a maioria com estudos de espécies não tropicais. É necessário incrementar o número de estudos nesta direção para as nossas espécies.

Os ovos parasitados por *Trichogramma* podem ser armazenados na geladeira (8-12°C), por 20 a 22 dias. Ovos armazenados a -10°C por mais de um ano podem ser utilizados para criação de *Trichogramma* spp. (DROOZ, 1981). Em nitrogênio líquido, os ovos armazenados por até nove meses podem ser parasitados por *Trichogramma* sem perda das características biológicas (HUAI-YI, 1988).

Os ovos de *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) armazenados durante 12 meses em nitrogênio líquido foram parasitados por *Trissolcus basalís* (Hymenoptera: Platygasteridae), sem alterar suas características biológicas (CORRÊA-FERREIRA; OLIVEIRA, 1998).

Os parasitoides da família Pteromalidae que atacam a mosca-doméstica parasitam seus pupários armazenados a -21°C por mais de um ano. Parasitoides das famílias Trichogrammatidae e Encyrtidae (Hymenoptera) podem ser criados em ovos inviabilizados (embri-

ões mortos) pela radiação ultravioleta ou em altas temperaturas (50-55°C) e umidades relativas próximas à saturação. Esse material pode ser armazenado em baixas temperaturas sem perder o valor nutricional para predadores como crisopídeos (Neuroptera: Chrysopidae).

*Diglyphus isae* (Hymenoptera: Eulophidae), em baixas temperaturas, pode ser armazenado por mais de dois meses (BURGIO; NICOLI, 1994). *Aphidius matricariae* (Braconidae: Aphidiidae) pode ser armazenado em baixas temperaturas por muitas semanas (HÅGVAR; HOF SVANG, 1991). *Apanteles plutellae* (Hymenoptera: Braconidae) pode ser armazenado por 50 dias, na faixa de 7 a 10°C (HO, 1979). *Trissolcus basalís* pode ser armazenado por 180 dias, a 15 ou 18°C, sem perder a capacidade de parasitismo (DOETZER; FOERSTER, 2007).

O adulto do predador *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) pode ser armazenado em baixas temperaturas por 30 semanas com bom nível de sobrevivência e reprodução (TAUBER et al., 1993).

Com relação ao transporte, existem poucos resultados divulgados no Brasil e mesmo no exterior. No nosso país, existe o trabalho realizado com *Cotesia flavipes*, mostrando que não há necessidade de grandes cuidados com deslocamentos em veículos por até 2 horas para entrega do produto biológico, por via terrestre, com temperaturas em torno de 40°C (ANCHESCHI et al., 2009).

Entretanto, períodos mais longos podem requerer cuidados especiais, como:

- » recipientes climatizados (térmicos);
- » adição de alimento (Tabela 1);
- » pólen e presa para predadores.

**Tabela 1.** Longevidade (dias) de *Trichogramma pretiosum* a 25°C com diferentes fontes de alimentos (BLEICHER; PARRA, 1991).

Alimento	Longevidade (dias)
Sem alimento	1,3 ± 0,40
Mel 10%	2,4 ± 0,21
Mel puro	5,1 ± 0,65

Quando existe a possibilidade de emergência no transporte das embalagens de plástico ou papelão onde estão os inimigos naturais, a adição de papel, serragem, vermiculita, farinha-de-trigo, trigo sarraceno, casca de arroz etc., evitam o canibalismo. Muitas vezes, quando as liberações são feitas com adultos como *C. flavipes*, estes materiais são desnecessários. Também existem casos, como o *Trichogramma* spp., em que não ocorre tais problemas, pois os ovos do hospedeiro são esterilizados e colados em cartão.

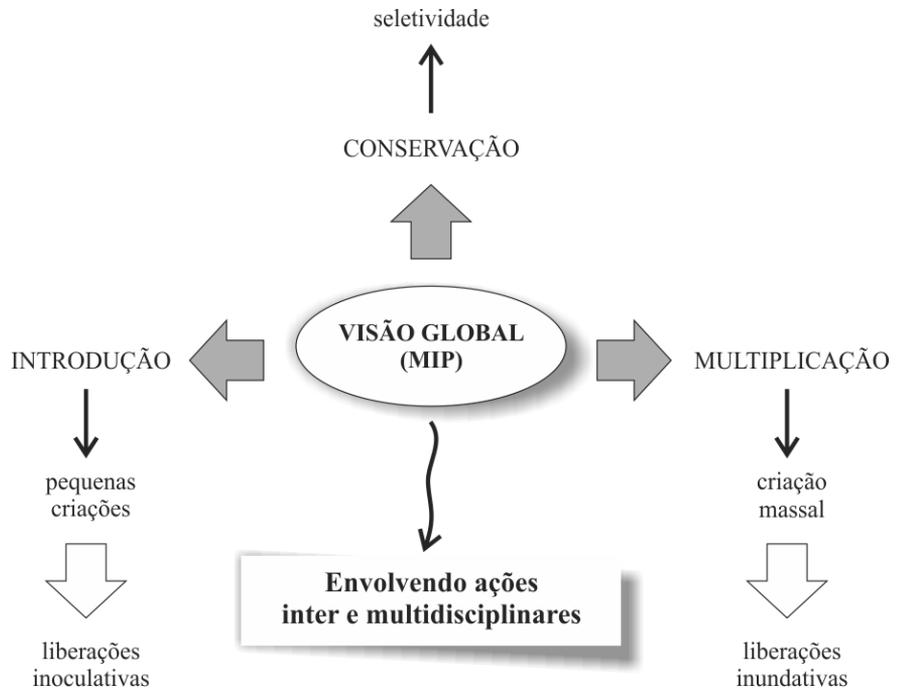
### O que falta no Brasil?

1. Cultura de Controle Biológico;
2. Estudos básicos da praga e inimigos naturais (análises de impacto ambiental, incluindo ação sobre organismos não-alvo);
3. Aumento do número de laboratórios que trabalham com técnicas de criação de insetos (poucos laboratórios no Brasil trabalharam com o tema) para evitar que surjam empresas de baixa qualidade;
4. Incrementar a relação empresa x Universidade (Institutos de Pesquisas), vencendo assim a barreira cultural, muito forte no país;

5. Análise do mercado e definição de prioridades (para pragas e inimigos naturais a serem estudados);
6. Comercializar produtos já “acabados”, ou seja, com certeza de resultados;
7. Controle de qualidade dos insumos biológicos oferecidos, a ser feito por Universidades ou Institutos de Pesquisa, para dar maior credibilidade aos laudos emitidos;
8. Treinamento do usuário (agricultor) com campos de demonstração (o serviço de extensão e transferência de tecnologia são fundamentais para a implementação do Controle Biológico);
9. Ajustar a escala de produção da técnica de criação desenvolvida pela pesquisa para uma escala maior e desenvolver uma logística de armazenamento e transporte para as empresas que venham a comercializar o inimigo natural.

### **Considerações finais e o futuro do Controle Biológico no país**

É muito importante que o Controle Biológico nunca seja considerado isoladamente, mas sempre como um dos mais importantes componentes do MIP, envolvendo ações inter e multidisciplinares (Figura 7).



**Figura 7.** Visão global do MIP envolvendo diferentes procedimentos de controle biológico

Para o avanço do Controle Biológico é fundamental que se continue com a formação de massa crítica na área, preservando o equilíbrio entre pesquisa básica e aplicada. Mas, sobretudo, o Controle Biológico deve ser regulado por uma legislação forte e deve ser organizado. A ABCBio (Associação Brasileira de Empresas de Controle Biológico), formada por companhias privadas e fundada em 2007, é um bom início para o processo. Entretanto, para maior utilização do Controle Biológico, devemos planejar os sistemas de produção, especialmente no Brasil Central, onde não é respeitado o princípio básico da agricultura sustentável (PARRA; OMOTO, 2005). Com a falta de planejamento, com a monocultura (soja, cana-de-açúcar, milho) e com a continuidade da cultura em uma área (milho, soja, algodão), as pragas proliferam e se transferem de um sistema para

outro; assim, os sistemas tornam-se desequilibrados com a aplicação irracional de agroquímicos. É impossível esperar a sustentação do Controle Biológico em um sistema desequilibrado. O caso da soja é bastante elucidativo. O excesso de aplicações de agroquímicos na cultura proporcionou o aparecimento de novas pragas, antes secundárias, como *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) e diversas espécies de *Spodoptera* (*S. frugiperda*, *S. eridania*, *S. cosmioides* e *S. albula*) (Lepidoptera: Noctuidae); a aplicação excessiva de fungicidas para controlar a ferrugem-asiática levou ao aumento da população do ácaro-verde na cultura, por eliminar fungos que mantinham tal ácaro em equilíbrio. Não se faz mais o MIP na cultura; as áreas que utilizavam *Baculovirus anticarsia* para controlar a lagarta-da-soja, que chegaram a ser de dois milhões de hectares, hoje não atingem 200.000 hectares.

Já existem alguns alertas que preocupam os interessados em Controle Biológico, como o livro “The systemic insecticides: a disaster in the making”, publicado por Henk Tennekes em 2010, que chama a atenção para o perigo dos modernos inseticidas, especialmente neonicotinoides e piretroides.

Por outro lado, desde a Convenção de Diversidade Biológica (CBD), com o conceito de acesso e divisão de benefícios (ABS), estão aumentando os problemas de acesso a inimigos naturais para Controle Biológico. O setor de Controle Biológico, através da IOBC (International Organization of Biological Control) expressou sua preocupação com o risco da nova legislação da ABS, que poderá desacelerar ou mesmo paralisar o processo de Controle Biológico, preocupação hoje aumentada com o Protocolo de Nagoya de 2010.

Uma Comissão designada pela IOBC, composta por 10 pessoas, incluindo dois brasileiros, vem discutindo o tema com publicações sobre o assunto (COCK et al., 2009, 2010; LENTEREN et al., 2011).

Para continuar o uso e aumentar a área de liberação de inimigos naturais no Brasil é fundamental o aumento da aplicação do MIP com um planejamento dos sistemas de produção, pois se isto não acontecer corremos o risco de regredirmos e voltarmos ao início dos anos 40 do século passado, em que éramos tradicionalmente um país de agroquímicos.

## Referências

ANCHESCHI, J. G.; CANINI, F. L. S.; PINTO, A. de S. Efeito de alta temperatura na emergência de adultos de *Cotesia flavipes*. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA, 9., Ribeirão Preto, 2009. **Resumos...** Ribeirão Preto: CUML, 2009. 1 CD-ROM.

BLEICHER, E.; PARRA, J. R. P. Efeito do hospedeiro de substituição e da alimentação na longevidade de *Trichogramma* sp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 26, n. 11-12, p. 1845-1850, 1991.

BUENO, V. H. P. (Org.). **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. Lavras: UFLA, 2000. 215 p.

BUENO, V. H. P. (Org.). **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. 2.ed. Lavras: UFLA, 2009. 429 p.

BURGIO, G.; NICOLI G. Cold storage of *Diglyphus isaea*. In: NICOLI, G.; BENUZZI, M.; LEPLA, N. C. (Ed.). **Quality control of mass reared arthropods**. Rimini: IOBC, 1994. p. 171-178. Edition of Seventh workshop of IOBC global working group, held at Rimini, Italy, 1994.

COCK, M. J. W.; LENTEREN, J. C. van; BRODEUR, J.; BARRATT, B. I. P.; BIGLER, F.; BOLCKMANS, K.; CÔNSOLI, F. L.; HAAS, F.; MASON, P. G.; PARRA, J. R. P. Do new access and benefit sharing procedures under the convention on biological diversity threaten the future of biological control? **BioControl**, Dordrecht v. 55, n. 2, p. 199-218, 2010.

COCK, M. J. W.; LENTEREN, J. C. van; BRODEUR, J.; BARRATT, B. I. P.; BIGLER, F.; BOLCKMANS, K.; CÔNSOLI, F. L.; HAAS, F.; MASON, P. G.; PARRA, J. R. P. **The use and exchange of biological control agents for food and agriculture**. Rome: FAO, 2009. (Background study paper, 47).

COHEN, A.C. **Insect diets: science and technology**. Boca Raton: CRC Press, 2004. 324 p.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, décimo segundo levantamento, setembro 2013**. Brasília, DF, 2013. 30p. Disponível em: < [http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13\\_10\\_16\\_14\\_32\\_01\\_boletim\\_portugues\\_-\\_setembro\\_2013.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_10_16_14_32_01_boletim_portugues_-_setembro_2013.pdf)> Acesso em: 08 abr. 2014.

CÔNSOLI, F. L.; GRENIER, S. In vitro rearing of egg parasitoids. In: CÔNSOLI, F. L.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on *Trichogramma***. New York: Springer, 2010. p. 293-313. (Progress in Biological Control, 9).

CÔNSOLI, F. L.; PARRA, J. R. P. Biology of *Trichogramma galloi* and *T. pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared in vitro and in vivo. **Annals of Entomological Society of America**, College Park, v. 89, n. 6, p. 828-834, 1996a.

CÔNSOLI, F. L.; PARRA, J. R. P. Comparison of hemolymph and holotissues of different species of insects as diet components for in vitro rearing of *Trichogramma galloi* Zucchi and *T. pretiosum* Riley. **Biological Control**, Orlando, v. 6, n. 3, p. 401-406, 1996b.

CÔNSOLI, F. L.; PARRA, J. R. P. Criação *in vitro* de parasitóides e predadores. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 239-275.

CÔNSOLI, F. L.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on *Trichogramma***. New York: Springer, 2010. 479 p. (Progress in Biological Control, 9).

CORRÊA-FERREIRA, B. S.; OLIVEIRA, M. C. N. Viability of *Nezara viridula* (L.) eggs for parasitism by *Trissolcus basalís* (Woll.), under different storage techniques in liquid nitrogen. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 27, n. 1, p. 101-107, 1998.

DIAS, N. da S.; PARRA, J. R. P.; CÔNSOLI, F. L. Egg laying and development of Neotropical trichogrammatid species in artificial eggs. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 137, n. 2, p. 126-131, 2010.

DOETZER, A. K.; FOERSTER, L. A. Development, longevity and reproduction of *Trissolcus basalis* (Wollaston) and *Telenomus podisi* (Ashmead) (Hymenoptera: Scelionidae) in natural conditions during autumn and winter, in Southern Parana, Brazil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 36, n. 2, p. 233-242, 2007.

DROOZ, A. T. Subfreezing eggs of *Lambdina pellucidaria* (Lepidoptera: Geometridae) alters status as factitious host for *Ooencyrtus ennemophagus* (Hymenoptera: Encyrtidae). **The Canadian Entomologist**, Toronto, v. 113, n. 8, p. 775-776, 1981.

HÅGVAR, E. B.; HOFVANG, T. Aphid parasitoids (Hymenoptera: Aphidiidae): biology, host selection and use in biological control. **Biocontrol News and Information**, London, v. 12, n. 1, p. 13-41, 1991.

HO, K. Studies on the effect of low temperature storage of *Apanteles plutellae*. **Phytopathologist & Entomologist**, [S.l.], v. 6, p. 16-22, 1979.

HUAI-YI, M. Studies on long-term storage of hosts for propagating *Trichogramma*. *Trichogramma* and other egg parasites. In: SYMPOSIUM INTERNATIONAL LES TRICHOGRAMMES ET AUTRES PARASITOIDES OOPHAGES, Guangzhou, 1986. **[Annales...]** Paris: INRA, 1988. p. 369-371. (Les Colloques de l'INRA, v. 43).

KOGAN, M. Integrated pest management: historical perspectives and contemporary development. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 43, p. 243-270, 1998.

LENTEREN, J. C. van. **Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures**. Wallingford: CAB, 2003. 327 p.

LENTEREN, J. C. van. The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. **BioControl**, Dordrecht, v. 57, n. 1, p. 1-20, 2012.

LENTEREN, J. C. van; COCK, M. J. W.; BRODEUR, J.; BARRATT, B. I. P.; BIGLER, F.; BOLCKMANS, K.; HAAS, F.; MASON, P. G.; PARRA, J. R. P. Will the convention on biological diversity put an end to biological control? **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 55, n. 1, p. 1-5, 2011.

MAGRO, S. R.; DIAS, A. B.; TERRA, W. R.; PARRA, J. R. P. Biological, nutritional, and histochemical basis for improving an artificial diet for *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 35, n. 2, p. 215-222, 2006.

PARRA, J. R. P. A evolução das dietas artificiais e suas interações em ciência e tecnologia. In: PANIZZI, A.R.; PARRA, J. R. P. (Ed.). **Bioecologia e nutrição de insetos**: base para o manejo integrado de pragas. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Londrina: Embrapa Soja, 2009. p. 91-174.

PARRA, J. R. P. A prática do controle biológico de pragas no Brasil. 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. 11-24.

PARRA, J. R. P. Criação massal de inimigos naturais. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil**: parasitóides e predadores. São Paulo: Manole, 2002. p. 143-164.

PARRA, J. R. P. Egg parasitoids commercialization in the New World. In: CÔNSOLI, F. L.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on *Trichogramma***. New York: Springer, 2010a. p. 373-388. (Progress in Biological Control, 9).

PARRA, J. R. P. Mass rearing of natural enemies. In: CAPINERA, J. L. (Org.). **Encyclopedia of entomology**, v. 3. Dordrecht: Springer, 2008. p. 2301-2305.

PARRA, J. R. P. O controle biológico no Brasil: para onde vamos? **G.bio**, Ribeirão Preto, ed. especial, p. 33-35, 2010b.

PARRA, J. R. P.; BENTO, J. M. S.; CHAGAS, M. C. M.; YAMAMOTO, P. T. O controle biológico da larva-minadora-dos-citros. **Visão Agrícola**, Piracicaba, v. 1, n. 2, p. 64-67, 2004.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. Controle biológico: uma visão inter e multidisciplinar. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil**: parasitóides e predadores. São Paulo: Manole, 2002. p. 125-142.

PARRA, J. R. P.; OMOTO, C. Cada vez mais terríveis. **Cultivar**, Pelotas, v. 65, p. 46-48, 2005.

PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. *Trichogramma* in Brazil: feasibility of use after twenty years of research. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 3, p. 271-281, 2004.

ROSSI, M. M. As interrupções de desenvolvimento em *Trichogramma*. In: PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). ***Trichogramma e o controle biológico aplicado***. Piracicaba: Fealq, 1997. p. 151-172.

SCHNEIDER, J. (Ed.). **Principles and procedures for rearing high quality insects**. Starkville: Mississippi State University, 2009. 352 p.

SINGH, P. **Artificial diets for insects, mites and spiders**. New York: Phenun, 1977. 594 p.

SINGH, P.; MOORE, R. F. (Ed.). **Handbook of insect rearing**. Amsterdam: Elsevier, 1985. 2 v.

SMITH, C. N. (Ed.). **Insect colonization and mass production**. New York: Academic Press, 1966. 618 p.

TAUBER, M. J.; TAUBER, C. A.; GARDESCU, S. Prolonged storage of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). **Environmental Entomology**, v. 22, n. 4, p. 843-848, 1993.

# Predadores no Controle Biológico de Pragas: Sucessos e Desafios

Vanda H. P. Bueno e Joop C. van Lenteren

---

## Introdução

Controle biológico consiste no uso de um organismo, denominado inimigo natural, para reduzir a densidade populacional de outro organismo, denominado herbívoro.

O controle biológico tem sido usado há cerca de dois milênios e tem se tornado de uso mundial desde o final do século 19 (LENTEREN, 2012). O primeiro grande sucesso do controle biológico data de 1889, com a introdução e uso da joaninha predadora *Rodolia cardinalis* (Mulsant) para o controle da cochonilha *Icerya purchasi* Maskell em pomares de citros nos EUA, sendo que isto se tornou um ícone e o mais conhecido triunfo mundial do controle biológico (COCK et al., 2010).

Dentre os inimigos naturais usados em controle biológico destacam-se os artrópodes predadores e parasitóides, os quais podem ter um importante papel na regulação da população de herbívoros. Artrópodes predadores podem ser definidos como indivíduos de vida livre e geralmente são maiores que suas presas. Requerem mais de um indivíduo para completar o seu desenvolvimento, matando a sua presa imediatamente ou logo após o seu ataque. Alimentam-se de presas diferentes, às vezes, porém, podem ter certa especificidade ou, ainda obter recursos de mais de uma fonte,

seja de material vegetal e animal. Algumas espécies têm diferentes estratégias de alimentação em diferentes estágios de seu ciclo de vida, podendo, por exemplo, ser predadores no estágio larval e no adulto se alimentarem de néctar e ou substâncias açucaradas. Estão representados em muitas ordens e famílias, e várias espécies têm mostrado um grande valor e impacto em controle biológico.

O sucesso do controle biológico depende de vários fatores, entre eles, o tipo e ou espécie de inimigo natural a ser usado como agente de controle biológico. Durante muito tempo foi dado mais crédito para este sucesso para os parasitoides por causa da sua maior especificidade; entretanto, hoje em dia, os predadores têm demonstrado serem de grande valia como efetivos agentes de controle biológico, tanto para ser usado isoladamente ou como uma primeira linha de defesa antes do uso de um inimigo natural mais especializado. Segundo Brodeur et al. (2002) a maioria deles são denominados de *higher-order predators* por sua atuação como agentes de controle seja no controle biológico natural ou aumentativo.

Em uma revisão em que foi investigado o impacto das taxas de liberação de 35 agentes de controle biológico para o controle de 42 artrópodes pragas, Crowder (2007) demonstrou que os resultados foram similares quando parasitoides ou predadores foram utilizados como inimigos naturais. Dados compilados por Lenteren (2012) mostraram que dentre as 230 espécies de inimigos naturais invertebrados comercializadas, os predadores compreendem 44% delas, em contrapartida aos parasitoides (53%) e aos nematóides entomopatogênicos (3%).

Numerosos predadores generalistas como aranhas, sirfídeos, carabídeos, crisopídeos, joaninhas e outros, constituem a principal força do controle biológico natural em cultivos anuais, como o de frutíferas. Segundo Albajes e Alomar (1999), quando o controle natural não é suficiente e liberações inoculativas sazonais ou aumentativas

são necessárias para um controle imediato da praga, um inimigo natural deverá particularmente ser rápido em responder ao súbito e imprevisível aumento no número de presas/hospedeiro, possuir uma alta capacidade de dispersão, procurar pela presa mais abundante, agregar-se em altas concentrações de presas e também ser capaz de sobreviver em baixas densidades de presas. Neste sentido, os predadores considerados generalistas, freqüentemente apresentam vários destes requerimentos devido a sua plasticidade comportamental e de desenvolvimento a mudanças ambientais e a densidades de presas.

Embora outras características atribuídas aos predadores, como a predação intraguilda, envolvendo a possível interferência com outros inimigos naturais, ou a alimentação, ou suplementar a sua dieta carnívora com materiais e/ou partes de plantas, ainda possa ser motivo de preocupação respectivamente, quanto a um impacto ou ruptura no controle biológico e danos na planta, estudos e avaliações podem ser feitas e dessa maneira, tornar o emprego de predadores em programas de controle biológico de pragas uma realidade de sucesso em muitos sistemas de cultivo, seja em condições de campo ou em cultivos protegidos.

### **Predação intraguilda e fitofagia**

Predação intraguilda foi definida por Polis et al. (1989) como a co-ocorrência de competição de inimigos naturais por um hospedeiro e predação sobre outros predadores ou parasitoides. Como exemplo pode-se citar que o coccinelídeo predador *Harmonia axyridis* (Pallas), provavelmente introduzido acidentalmente no Brasil, é um importante predador intraguilda, pois compete por alimento com as espécies nativas de coccinelídeos (MARTINS et al., 2009). Em condições de laboratório, *Orius insidiosus* (Say) se alimenta de *Aphis gossypii* Glover parasitado por *Aphidius colemani* Viereck, mas so-

mente antes da mumificação, não afetando a ação do parasitoide *A. colemani* na redução da população da praga *A. gossypii* (PIERRE et al., 2006).

Assim, em muitas circunstâncias, a predação intraguilda pode promover a ocorrência de estados estáveis alternativos. Consistente com isto, em uma revisão sobre predação intraguilda, Rosenheim et al. (1995) concluíram que é prematuro desenhar generalizações em relação aos efeitos da predação intraguilda sobre o nível da supressão de praga delimitada pelo controle biológico. Segundo Eubanks e Denno (2000), a seleção da presa por predadores generalistas pode ter importantes consequências para a população da presa. O impacto de um predador generalista sobre uma espécie qualquer de presa dependerá não somente da abundância e suscetibilidade dessa espécie de presa, mas também da abundância e susceptibilidade de outras espécies que dividem o mesmo inimigo natural.

Consequentemente, a avaliação de um predador generalista como um candidato para controle biológico, em casas de vegetação, deverá idealmente incluir o estudo das interações com outros inimigos naturais liberados ou nativos. Este conhecimento poderá ser útil para determinar quando e como um predador generalista poderá ser liberado ou como ele pode ser manejado para otimizar eficientemente o seu controle e minimizar os seus possíveis efeitos negativos sobre outros agentes de controle. Também o uso de predadores generalistas para controle biológico em casas de vegetação tem que ser avaliado dentro de um contexto específico, ou seja, tanto das pragas como de outros inimigos naturais. Não é somente a presença de mais do que uma espécie de inimigo natural que afeta o controle biológico, mas também a presença de mais do que uma espécie de praga. Havendo múltiplas espécies de presas pode aumentar o nível de controle feito pelos agentes de controle generalistas, uma vez que fornece amplas fontes de recursos para ma-

nutrição da sua população e para o aumento do seu desempenho devido aos efeitos de uma dieta mista (MESSELINK et al., 2008). Tem sido reportado que o canibalismo entre os predadores pode permitir que o predador mantenha um nível populacional efetivo se a densidade da presa decresce a um nível que exclua o efetivo crescimento populacional (RUDOLF, 2007).

A fitofagia é uma característica importante a ser estudada em predadores. Estudos envolvendo os hábitos alimentares entre os insetos têm demonstrado que muitas espécies são onívoras, ou seja, eles podem usar o alimento em mais de um nível trófico (COLL; GUERSHON, 2002). Assim, a zoofitofagia é um caso especial de onivoria na qual os insetos se alimentam tanto de material vegetal como de presas no mesmo estágio de desenvolvimento, e este é o caso de muitos predadores, sejam insetos ou ácaros (ALBAJES et al., 2006). Exploração de alimentos derivados de plantas é largamente distribuído entre agentes de controle biológico, particularmente os predadores provenientes de ordens incluindo Diptera, Coleoptera, Heteroptera, Thysanoptera, Neuroptera e Acari (WACKERS, 2008).

Dessa maneira, o uso potencial de predadores zoofitófagos para o controle biológico foi no passado tradicionalmente negligenciado, e a principal razão foi o risco de que sua alimentação em plantas cultivadas poderia resultar em dano econômico significativo, seja por meio da consequência direta que os possíveis danos causariam no tecido da planta, ou indireta associada com a provável inoculação de patógenos que causariam doenças. No entanto, embora a herbivoria de inimigos naturais possa danificar plantas e resultar em perdas econômicas, dano significativo na planta é relativamente raro, a despeito do fato de que muitos agentes de controle biológico regularmente se alimentam de plantas (ALBAJES; ALOMAR, 2008; WACKERS, 2008). Hagen et al. (1999) em uma extensa revisão sobre a maioria dos grupos de predadores mencionou a alimenta-

ção em plantas por muitas espécies de ácaros, tripses e percevejos heterópteros predadores; entretanto, o dano em plantas cultivadas foi raramente relatado. Sampson e Jacobson (1999) relatam que, normalmente, os danos causados pelo percevejo predador *Macrolophus pygmaeus* (Rambur) na planta de tomate se devem à alta densidade populacional do predador (50-300 indivíduos/planta) e baixa abundância de presas. Calvo et al. (2009) observaram que o aparecimento de anéis necróticos em plantas de tomate está relacionado à maior permanência do predador *Nesidiocoris tenuis* (Reuter) junto à planta, isto é, ocorrência de maior abundância de ninfas do que de adultos do predador.

Assim, o fenômeno da fitofagia exibido por predadores tende a ser de menor impacto se for manejado apropriadamente dentro do cultivo e o seu benefício é considerado em termos de sua efetividade no controle de populações de pragas. A tendência onívora de muitos predadores provavelmente aumenta sua sobrevivência durante períodos de escassez da presa, ajuda a prevenir dissecação durante períodos secos, e contribui para a persistência de suas populações permitindo ao predador colonizar cultivos antes da chegada da praga. O alimento vegetal pode, também, representar um importante complemento para uma dieta carnívora. Benefícios da fitofagia para o predador, no entanto, são específicos para cada espécie e dependem da idade do predador, da qualidade da presa e dos componentes da planta na dieta. Esta flexibilidade trófica deverá aumentar o valor dos predadores como agentes de controle biológico (CASTANÉ et al., 2011; GILLESPIE; MCGREGOR, 2000).

### **Tipos de controle biológico e a inserção dos predadores**

Controle biológico vem sendo usado como método de controle há mais de 120 anos durante os quais pelo menos 165 espécies de

pragas e ervas daninhas têm estado sob o controle permanente ou temporário. Durante este período, mais de 7000 introduções de agentes de controle biológico envolvendo quase 2.700 espécies têm sido feitas, e em adição 230 espécies são produzidas e vendidas globalmente para liberações periódicas para o controle de mais de 130 espécies de pragas (COCK et al., 2010; LENTEREN, 2012).

Atualmente distinguem-se quatro tipos de controle biológico, no qual os predadores podem estar inseridos.

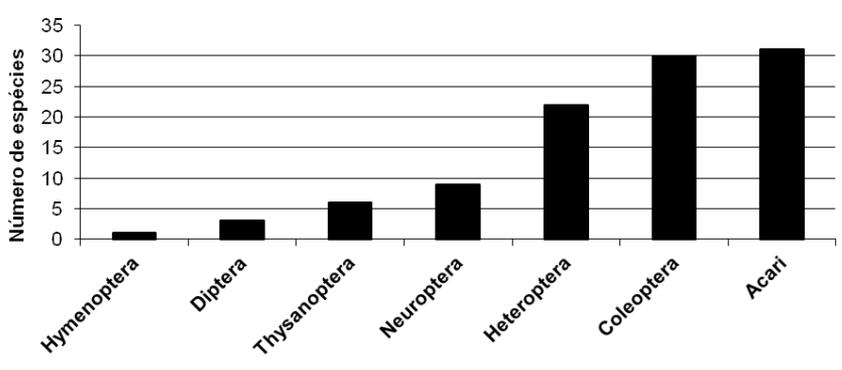
Controle biológico natural, que ocorre em todos os ecossistemas ao redor do mundo, sem a interferência do homem, é a redução de organismos pragas por seus inimigos naturais e controla 95% das pragas em 85.5 milhões de km<sup>2</sup>. Controle biológico por conservação, o qual consiste de ações humanas que protegem e estimulam o desempenho de inimigos naturais que ocorrem naturalmente. Predadores ocorrem naturalmente em sistemas equilibrados e sua preservação e conservação se constituem em uma prática importante para a maior atuação e promoção do controle biológico. Segundo Blommers (1994) exemplos de sucesso da atuação do controle biológico natural e conservativo são do ácaro predador *Typhlodromus pyri* Scheuten em pomares de maçã no controle biológico do ácaro vermelho *Panonychus ulmi* (Koch) no Oeste Europeu; do ácaro predador *Amblyseius andersoni* Chant e da joaninha predadora *Stethorus punctillum* Weise no controle de ácaros fitófagos, também em maçã; e do percevejo predador *Anthocoris nemoralis* (Fabricius) no controle de psilídeos em pomares de pêra, ambos na Itália.

Controle biológico clássico, em que organismos benéficos são coletados em uma área de exploração e introduzidos na área onde se pretende controlar a praga. Segundo Cock et al. (2010), dois insetos predadores foram introduzidos por meio do controle biológico

clássico, os coccinellídeos *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant e *R. cardinalis*, ambos de origem australiana, liberados e introduzidos para controle biológico de *mealybugs* (cochonilhas) em 58 países, e da cochonilha *I. purchasi* em 56 países, respectivamente.

Controle biológico aumentativo refere-se a liberações periódicas de inimigos naturais, sendo que em controle biológico aumentativo comercial, inimigos naturais são criados em larga escala (criação massal), em biofábricas para liberação em grandes números para se obter um imediato controle da praga (LENTEREN, 2009, 2010, 2012). É usado em 0,16 milhões de Km<sup>2</sup>, ou seja, em 0,4% da terra cultivada, e vem sendo aplicado tanto em condições de campo, em cultivos que tem poucas pragas, como por exemplo, em cultivos de soja e de cana-de-açúcar, como em casas de vegetação (hortaliças e ornamentais) contra muitas pragas diferentes.

Predadores têm contribuído sobremaneira dentro do contexto do uso como agentes de controle biológico de sucesso. Crowder (2007), com base em um número total de 35 predadores, relatou que os mais utilizados como agentes de controle biológico encontravam-se dentro de Acari (55%), Heteroptera (30%), Coleoptera (10%) e Neuroptera (5%). Entretanto, Lenteren (2012) com dados compilados de 1990 a 2010, em um número total de 104 predadores, relata a representação de Acari (29,81%), Coleoptera (28,85%), Heteroptera (21,16%), Neuroptera (8,65%), Thysanoptera (5,77%), Diptera (2,88%) e Hymenoptera (0,96%) quanto aos grupos taxonômicos dos quais provêm inimigos naturais, usados em controle biológico aumentativo comercial (Figura 1).



**Figura 1:** Predadores classificados por ordem de importância quanto ao grupo taxonômico em uso no controle biológico aumentativo comercial (dados compilados de 1999 a 2010, correspondente ao número total de 104 predadores) (LENTEREN, 2012)

As espécies de predadores mais importantes utilizadas em controle biológico aumentativo comercial estão presentes na Ordem Acari, famílias Phytoseiidae e Laelapidae; Coleoptera, família Coccinellidae; Hemiptera-Heteroptera, famílias Anthocoridae e Miridae; Diptera, famílias Cecidomyiidae e Syrphidae (LENTEREN, 2012). Assim, dentro deste contexto, 12 espécies foram classificadas por ordem do maior uso como os principais e mais importantes predadores invertebrados usados como agentes de controle biológico em controle biológico aumentativo ao redor do mundo (Tabela 1).

**Tabela 1.** Doze principais espécies de predadores classificados quanto ao maior uso como agentes de controle biológico aumentativo comercial em nível mundial (modificado após Lenteren, 2012).

Agente de Controle Biológico	Família	Presa(s) (Alvos)	Nº de países aonde é usado	Ano do primeiro uso
1. <i>Amblyseius swirskii</i>	Phytoseiidae	Mosca-branca, tripes, ácaros	> 20	2005
2. <i>Aphidoletes aphidimyza</i>	Cecidomyiidae	Pulgões	> 20	1989
3. <i>Macrolophus pygmaeus</i> (= <i>nubilis</i> )	Miridae	Mosca-branca	> 20	1994
4. <i>Neoseiulus cucumeris</i> (= <i>Amblyseius cucumeris</i> )	Phytoseiidae	Tripes	> 20	1985
5. <i>Phytoseiulus persimilis</i>	Phytoseiidae	Ácaros	> 20	1968
6. <i>Orius laevigatus</i>	Anthoridae	Tripes	> 15	1993
7. <i>Cryptolaemus montrouzieri</i>	Coccinellidae	Cocídeos, pseudo-cocídeos	> 15	1989
8. <i>Galeolaelaps aculeifer</i> (= <i>Hypoaspis aculeifer</i> )	Laelapidae	Sciáridos	> 15	1996
9. <i>Feltiella acarisuga</i> (= <i>Therodiplosis persicae</i> )	Cecidomyiidae	Ácaros	> 15	1990
10. <i>Stratiolaelaps miles</i> (= <i>Hypoaspis miles</i> )	Laelapidae	Sciáridos	> 15	1995
11. <i>Neoseiulus californicus</i> (= <i>Amblyseius californicus</i> )	Phytoseiidae	Ácaros, tripes	> 10	1985
12. <i>Episyrphus balteatus</i>	Syrphidae	Pulgões	> 10	1990

## **Destaques dos principais grupos taxonômicos com predadores usados como agentes de controle biológico aumentativo comercial**

### **Acari**

**Família Phytoseiidae** – Aspectos biológicos e comportamentais quanto às diferentes espécies de predadores desta família são reportados por Griffiths (1999) e Moraes et al. (2009), e uma extensa revisão quanto aos diferentes estilos de vida em Phytoseiidae e seu papel no controle biológico foi apresentada por McMurtry e Croft (1997). Atualmente 31 espécies de fitoseídeos são usadas em controle biológico aumentativo comercial em todo o mundo (LENTE-REN, 2012) (Tabela 2), sendo que quatro espécies de fitoseídeos estão entre as 12 principais espécies de predadores mais usados nos dias atuais (Tabela 1).

A espécie *Phytoseiulus persimilis* (Athias-Henriot) (Figura 2) foi o primeiro inimigo natural e o mais amplamente usado comercialmente em todo o mundo para o controle do ácaro rajado *Tetranychus urticae* Koch em cultivos protegidos. Seu uso iniciou-se em 1968, com 100.000 indivíduos a milhões deles vendidos, por semana, para o controle de ácaros na Europa, Norte e Sul da África, América do Norte, América Latina, Ásia, Austrália e Nova Zelândia. Este predador *P. persimilis* ocupa a quinta posição dentre as 12 espécies mais usadas como agentes de controle.



**Figura 2:** Ácaro predador *Phytoseiulus persimilis*.

Já o uso de *Amblyseius swirskii* (Athias-Henriot) (Figura 3) iniciou-se em 2005, mas em pouco tempo se tornou uma das espécies mais utilizadas em todo o mundo para o controle de ácaros, tripes e mosca branca (Tabelas 1, 2), ocupando o primeiro lugar na classificação entre os predadores mais usados como agentes de controle em todo o mundo (Tabela 1). Este ácaro é capaz de se estabelecer rapidamente em cultivos de berinjela, pepino e pimentão em casa de vegetação, mostrando uma grande eficácia no controle de mosca-branca e tripes (CALVO; BELDA, 2007), que no caso da Espanha facilitou a implementação do controle biológico na maior parte das áreas com cultivos protegidos na província de Almeria.

**Tabela 2:** Disponibilidade comercial de predadores Acari usado em controle biológico aumentativo ao redor do mundo (após Lenteren, 2012).

Predador	Classificação	Região onde é usada	Presas(s) (alvos)	Ano do 1º Uso (estimado)	*Valor do mercado
<i>Amblyseius andersoni</i> (= <i>potentillae</i> )	Acari	Europa, América do Norte, Ásia	Ácaros	1995	S
<i>Amblyseius largoensis</i>	Acari	Europa	Ácaros	1995	S
<i>Amblyseius limonicus</i>	Acari	Europa	Ácaros, tripses	1995	S
<i>Amblyseius swirskii</i>	Acari	Europa, Norte e Sul da África, América do Norte e América Latina, Ásia	Ácaros, tripses, mosca-branca	2005	L
<i>Amblyseius womersleyii</i>	Acari	Ásia	Ácaros	2005	L
<i>Euseius finlandicus</i>	Acari	Europa	Ácaros	2000	S
<i>Euseius scutalis</i>	Acari	Europa	Ácaros	1990	S
<i>Galenromus (Typhlodromus) occidentalis</i>	Acari	América do Norte, Austrália	Ácaros	1969	L
<i>Galeolaelaps (Hypoaspis) aculeifer</i>	Acari	Europa, Norte da África, América do Norte, Ásia, Austrália/Nova Zelândia	Dípteros, tripses, ácaros	1995	L
<i>Iphiseius (Amblyseius) degenerans</i>	Acari	Europa, América do Norte	Tripses	1993	M
<i>Macrocheles robustulus</i>	Acari	Europa	Dípteros, tripses, lepidópteros,	2010	L
<i>Mesoseiulus longipes</i>	Acari	América do Norte	Ácaros	1989	L

Continua...

**Tabela 2:** Disponibilidade comercial de predadores Acari usado em controle biológico aumentativo ao redor do mundo (após Lenteren, 2012).

Predador	Classificação	Região onde é usada	Presa(s) (alvos)	Ano do 1º Uso (estimado)	*Valor do mercado
<i>Metaseiulus occidentalis</i>	Acari	Europa	Ácaros	1985	S
<i>Neoseiulus (Amblyseius) barkeri</i>	Acari	Europa	Tripes	1981	S
<i>Neoseiulus (Amblyseius) californicus</i>	Acari	Europa, Norte e Sul da África, América do Norte e Latina, Ásia	Ácaros	1985	L
<i>Neoseiulus (Amblyseius) cucumeris</i>	Acari	Europa, Norte e Sul da África, América do Norte e Latina, Ásia, Austrália/Nova Zelândia	Tripes, ácaros	1985	L
<i>Neoseiulus (Amblyseius) fallacis</i>	Acari	Europa, América do Norte	Ácaros	1997	S
<i>Neoseiulus wearnei</i>	Acari	Austrália	Ácaros	2000	S
<i>Pergamasus quisquiliarum</i>	Acari	Europa	Symphylans	2000	S
<i>Phytoseiulus finitimus</i>	Acari	Europa	Ácaros	2000	S
<i>Phytoseiulus longipes</i>	Acari	Europa	Ácaros	1990	S
<i>Phytoseiulus macropilis</i>	Acari	América Latina	Ácaros	1980	L
<i>Phytoseiulus persimilis</i>	Acari	Europa, Norte e Sul da África, América do Norte e Latina, Ásia, Austrália/Nova Zelândia	Ácaros	1968	L

Continua...

**Tabela 2:** Disponibilidade comercial de predadores Acari usado em controle biológico aumentativo ao redor do mundo (após Lenteren, 2012).

Predador	Classificação	Região onde é usada	Presa(s) (alvos)	Ano do 1º Uso (estimado)	*Valor do mercado
<i>Stratiolaelaps (Hypoaspis) miles</i>	Acari	Europa, América do Norte, Austrália/Nova Zelândia	Sciarídeos	1995	L
<i>Stratiolaelaps (Hypoaspis) scimitus</i>	Acari	Europa, América Latina	Sciarídeos	1990	L
<i>Typhlodromus athiasae</i>	Acari	Europa	Ácaros	1995	S
<i>Typhlodromus doreenae</i>	Acari	Europa	Ácaros	2003	S
<i>Typhlodromus pyri</i>	Acari	Europa	Ácaros	1990	S
<i>Typhlodromips montdorensis</i>	Acari	Europa, Austrália	Tripes, ácaros	2003	L



Foto: Koppert Biological Systems

**Figura 3:** Ácaro predador *Amblyseius swirskii*.

O fitoseídeo predador *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Figura 4) uma espécie comercializada no Brasil para o controle de *T. urticae* em cultivos protegidos, como de ornamentais e de morango (BUENO; POLETTI, 2009), ocupa a décima primeira posição entre as espécies de predadores mais usadas no controle biológico aumentativo (Tabela 1). *N. californicus* é usado no controle biológico do ácaro fitófago *Panonychus ulmi* (Koch) em pomares de maçã no sul do Brasil, sendo que em 2008 atingiu o uso em 7500 ha. Desde que foi usado pela primeira vez, em 1997, já reduziu o uso de acaricidas nas colheitas de 1999-2000 em 97%. Encontra-se, também, entre as 12 espécies de predadores mais comercializadas ao redor do mundo, predando principalmente ácaros e tripses, *Neoseiulus cucumeris* (Oudemans) (Figura 5) o qual ocupa a quarta posição na classificação (Tabela 1).



Foto: Koppert Biological Systems

**Figura 4:** Ácaro predador *Neoseiulus californicus*.



Foto: Koppert Biological Systems

**Figura 5:** Ácaro predador *Neoseiulus cucumeris*.

**Família Laelapidae** – reúne ácaros predadores usados principalmente para o controle de moscas da família Sciaridae denominadas de “fungus-gnats”, cujas larvas são pragas importantes em raízes de várias ornamentais e hortaliças cultivadas em sistemas protegidos. As espécies *Galeolaelaps aculeifer* (Canestrini) (= *Hypoaspis aculeifer*) (Figura 6), na oitava posição de classificação, e *Stratiolaelaps miles* (Berlese) (= *Hypoaspis miles*) (Figura 7) na décima posição, entre as 12 principais espécies de predadores comercializados no controle biológico aumentativo. São usados contra sciarídeos, com 100.000 a milhões de indivíduos vendidos/semana (LENTEREN, 2012) (Tabelas 1, 2).

A espécie *Stratiolaelaps (Hypoaspis) scimitus* (Womersley) é comercializada no Brasil para o controle de *fungus gnats* em plantas em casas de vegetação (BUENO; POLETTI, 2009). Na Europa esta espécie é comercializada em larga escala.



Foto: Koppert Biological Systems

**Figura 6:** Ácaro predador *Hypoaspis aculeifer*.



Foto: Kristler Hall / Koppert Biological Systems

**Figura 7:** Ácaro predador *Hypoaspis miles*.

## Coleoptera

A maioria dos predadores desta ordem se encontra dentro da família Coccinellidae (82,3%), entretanto, outras famílias representadas são Staphylinidae (10,7%), Histeridae (3,5%) e Nitidulidae (3,5%) (Tabela 3).

**Família Coccinellidae** – Sua importância está no fato de que a maioria das espécies são predadoras eficientes de pulgões, coccídeos (cochonilhas), psilídeos e ácaros. Também podem preda larvas jovens de Lepidoptera, Coleoptera, Hymenoptera e Thysanoptera, que na maioria das vezes se constituem em pragas em sistemas agrícolas e florestais (ALMEIDA; RIBEIRO-COSTA, 2009).

O coccinélídeo predador *R. cardinalis* (Figura 8) usado no controle de *I. purchasi* providenciou um dos primeiros e mais expressivos exemplos de controle biológico clássico. Nesta família o destaque é para a espécie *C. montrouzieri* (Figura 9) que ocupa a sétima posição entre as 12 principais espécies de predadores comercializadas (Tabela 1). É usada para controle de coccídeos e pseudococcídeos

(cochonilhas), em mais de 15 países, desde o ano de 1989. Um total de 29 espécies de coleópteros predadores é mencionado por Lenteren (2012) como usados em controle biológico aumentativo comercial (Tabela 3) em diferentes regiões do mundo.



Foto: J. C. van Lenteren

**Figura 8:** Joaninha *Rodolia cardinalis* predando a cochonilha *Icerya purchasi*.



Foto: S. Gravena

**Figura 9:** Joaninha predadora *Cryptolaemus montrouzieri*.

**Tabela 3:** Disponibilidade comercial de predadores da Ordem Coleoptera usados em controle biológico aumentativo ao redor do mundo (após Lenteren, 2012).

Predador	Ordem	Região aonde é usado	Presas(s) (alvos)	Ano do 1º Uso (estimado)	*Valor do mercado
<i>Adalia bipunctata</i>	Coleoptera	Europa, América do Norte	Pulgões	1998	S
<i>Aleochara bilineata</i>	Coleoptera	Europa	Moscas-das-raízes	1995	S
<i>Carcinops pumilio</i>	Coleoptera	América do Norte	Dípteros	1990	S
<i>Chilocorus bailevi</i>	Coleoptera	Europa, Austrália	Diáspídeos	1992	S
<i>Chilocorus circumdatus</i>	Coleoptera	Europa, Austrália	Diáspídeos	1992	S
<i>Chilocorus nigritus</i>	Coleoptera	Europa, Sul da África	Diáspídeos	1985	S
<i>Clitostethus arcuatus</i>	Coleoptera	Europa	Mosca-branca	1997	S
<i>Coccinella septempunctata</i>	Coleoptera	Europa	Pulgões	1980	S
<i>Cryptolaemus montrouzieri</i>	Coleoptera	Europa, Norte e Sul da África, América do Norte, América Latina, Ásia, Austrália, Nova Zelândia	Coccídeos, Pseudococcídeos	1917	L
<i>Cybocephalus nipponicus</i>	Coleoptera	América do Norte	Cochonilhas	2000	S
<i>Dalotia (Atheta) coriaria</i>	Coleoptera	Europa, América do Norte, Ásia, Austrália	Dípteros, tripses	2000	S
<i>Delphastus catalinae</i>	Coleoptera	Europa, América do Norte	Mosca-branca	1985	S
<i>Delphastus pusillus</i>	Coleoptera	Europa, América do Norte	Mosca-branca	1993	M
<i>Diomus sp.</i>	Coleoptera	Europa	Cochonilhas	1990	S

Continua...

**Tabela 3:** Disponibilidade comercial de predadores da Ordem Coleoptera usados em controle biológico aumentativo ao redor do mundo (após van Lenteren, 2012).

Predador	Ordem	Região aonde é usado	Presas(s) (alvos)	Ano do 1º Uso (estimado)	*Valor do mercado
<i>Exochomus laeviusculus</i>	Coleoptera	Europa	Pulgões, cochonilhas	1988	S
<i>Exochomus quadripustulatus</i>	Coleoptera	Europa	Pulgões, cochonilhas	2000	S
<i>Harmonia axyridis</i>	Coleoptera	América do Norte, Ásia	Pulgões	1990	L
<i>Hippodamia convergens</i>	Coleoptera	Europa	Pulgões	1993	S
<i>Hippodamia variegata</i>	Coleoptera	Austrália	Pulgões	2000	S
<i>Holobus flavicornis</i>	Coleoptera	Europa	Pulgões	2000	S
<i>Nephus includens</i>	Coleoptera	Europa	Pseudococcídeos	2000	S
<i>Nephus reunioni</i>	Coleoptera	Europa	Pseudococcídeos	1990	S
<i>Rhyzobius chrysomeloides</i>	Coleoptera	Europa	Coccídeos	1980	S
<i>Rhyzobius forestieri</i>	Coleoptera	Europa	Coccídeos	1980	S
<i>Rhyzobius (Lindorus) lophanthae</i>	Coleoptera	Europa, América Latina	Coccídeos	1980	S
<i>Rodolia cardinalis</i>	Coleoptera	Europa	Margarodídeos	1990	S
<i>Scymnus rubromaculatus</i>	Coleoptera	Europa	Pulgões	1990	S
<i>Stethorus punctillum</i>	Coleoptera	Europa, América do Norte, Ásia	Ácaros	1984	S

Atenção deve ser dada a espécie *Harmonia axyridis* (Pallas) (Figura 10) que foi usada em grande escala como agente de controle biológico na Europa, no período de 1995 a 2005 (LENTEREN, 2011), e a partir deste ano foi considerada uma espécie de risco potencial para o Noroeste Europeu, que se deve a: (1) ser capaz de estabelecer-se; (2) ter uma ampla faixa de presas incluindo espécies de várias ordens de insetos e mesmo fora da Classe Insecta; (3) poder se alimentar de material vegetal; (4) ser capaz de se dispersar a grandes distâncias (> 50 km por ano); (5) mover-se dentro de áreas não-alvos (fora do cultivo onde é liberada); (6) poder atacar muitas espécies não-alvo, incluindo insetos benéficos e insetos sujeitos a preservação; (7) suas atividades resultarem na redução na população de predadores nativos na América do Norte; (8) ser conhecida como “irritante” na América do Norte e também no Noroeste Europeu; e (9) poder se desenvolver como praga em frutos na América do Norte (LENTEREN et al., 2008).



**Figura 10:** Joaninha predadora *Harmonia axyridis*.

No Brasil, Martins et al. (2009) reportam à *H. axyridis* uma alta capacidade de dispersão, cerca de 20 espécies de afídeos como presa, dominância em algumas áreas amostradas sobre a comunidade de Coccinellidae nativos. Entretanto, os mesmos autores recomen-

dam que mais estudos devam ser conduzidos, uma vez que ainda é pouco conhecido o papel ecológico de *H. axyridis* e seu potencial para competir e deslocar espécies nativas na América do Sul.

## Heteroptera

Uma extensa revisão sobre a ecologia reprodutiva de heterópteros predadores foi feita por Lundgren (2011). Esses percevejos são generalistas onívoros, balanceando suas dietas entre recursos alimentares presas e não-presas a um grau bastante variável. Devido à sua propensão em se alimentar de insetos-presas, muitos deles são considerados benéficos e vários deles são produzidos massalmente para o controle biológico de pragas, principalmente em cultivos protegidos (BUENO; LENTEREN, 2012).

**Família Anthocoridae** – reúne percevejos predadores generalistas, que se alimentam de tripes, ácaros, afídeos, ovos e algumas pequenas larvas de lepidópteros. No entanto, embora as espécies de *Orius* sejam polípagas, frequentemente mostram uma forte preferência por uma espécie particular de presa, como é o caso de tripes, com destaque para dois gêneros: *Orius* e *Anthocoris*.

Entre as espécies comercializadas como agentes de controle biológico, destacam-se *O. laevigatus* (Fieber) (Figura 11) e *O. insidiosus* (Say), usados em larga escala; *O. majusculus* (Reuter) e *O. strigicollis* (Poppius), usados em média escala. Dentro do gênero *Anthocoris*, o destaque é para *A. nemorum* (Linnaeus) e *A. nemoralis* (Fabricius) usados em pequena escala, principalmente para o controle de psilídeos (LENTEREN, 2012) (Tabela 4). *O. laevigatus* é o principal antocorídeo, predador mais usado em controle biológico aumentativo contra tripes em mais de 15 países desde o ano de 1993, ocupando a sexta posição dentre as 12 espécies classificadas (Tabela 1). *O. insidiosus* é a espécie mais comum no Brasil

e vários estudos foram desenvolvidos quanto a parâmetros biológicos, comportamento, criação massal e uso em controle biológico (BUENO; ZANUNCIO, 2009).



Foto: Koppert Biological Systems

**Figura 11:** Percevejo antocorídeo predador *Orius laevigatus*.

**Tabela 4.** Principais espécies de Anthocoridae comercializadas em diversas regiões do mundo (após Lenteren, 2012).

Anthocoridae (Espécies)	Região de uso	Alvos	Ano do 1º uso	*Produção no mercado
<i>Anthocoris nemorum</i>	Europa	Psilídeos, tripses	1992	Pequena escala
<i>Anthocoris nemoralis</i>	Europa, América do Norte	Psilídeos	1990	Pequena escala
<i>Orius albidipennis</i>	Europa	Tripses	1993	Pequena escala
<i>Orius armatus</i>	Austrália	Tripses	1990	Pequena escala
<i>Orius insidiosus</i>	América do Norte e Latina	Tripses	1985	Grande escala
<i>Orius laevigatus</i>	Europa, Norte da África e Ásia	Tripses	1993	Grande escala
<i>Orius majusculus</i>	Europa	Tripses	1993	Média escala

(continua)

**Tabela 4.** Principais espécies de Anthocoridae comercializadas em diversas regiões do mundo (após Lenteren, 2012).

Anthocoridae (Espécies)	Região de uso	Alvos	Ano do 1º uso	*Produção no mercado
<i>Orius minutus</i>	Europa	Tripes	1993	Pequena escala
<i>Orius strigicollis</i>	Ásia	Tripes	2000	Média escala

\*Pequena escala= 1000 a pouco + de 1000 indivíduos vendidos/semana; Média escala= 10.000 a 100.000 indivíduos vendidos/semana; Grande escala= 100.000 a milhões de indivíduos vendidos/semana.

**Família Miridae** - Vários estudos quanto à biologia, comportamento e efetividade de mirídeos predadores como agentes de controle biológico e como colonizadores em referência ao controle biológico natural e conservativo têm sido mostrados na literatura (ALBAJES et al., 2006; CALVO; BELDA, 2010; CASTANÉ et al., 2011; GABARRA et al., 2008; URBANEJA et al., 2009).

As espécies *Macrolophus pygmaeus* (Rambur) (Figura 12) e *Nesidiocoris tenuis* Reuter são inimigos naturais endêmicos que comumente habitam cultivos de tomate na Espanha (MARTINEZ-CASCALS et al., 2006). Ambos predadores são criados massalmente e liberados principalmente para o controle biológico de mosca-branca e de *Tuta absoluta* Meyrick em cultivos de tomate em casas de vegetação (CALVO; BELDA, 2010). Lenteren (2012) menciona o mirídeo predador *M. pygmaeus* entre as espécies mais usadas em controle biológico aumentativo comercial contra a mosca-branca, em mais de 20 países, desde o ano de 1994. Este predador ocupa a terceira posição dentre as 12 espécies mais usadas como agentes de controle (Tabela 1, Figura 12). *M. pygmaeus* é produzido em grande escala, ou seja, 100.000 a milhões de indivíduos vendidos por semana. O número total de espécies de predadores mirídeos usadas comercialmente está referido na Tabela 5.



Foto: Bert Mans

**Figura 12:** Percevejo mirideo predador *Macrolophus* sp.**Tabela 5.** Principais espécies de Miridae comercializadas em diversas regiões do mundo (Lenteren, 2012).

Miridae (Espécies)	Região de uso	Alvos	Ano do 1º uso	*Produção no mercado
<i>Dicyphus hesperus</i>	América do Norte	Mosca-branca	1995	Média escala
<i>Macrolophus caliginosus</i>	Europa	Mosca-branca, lepidópteros	2005	Média escala
<i>Macrolophus pygmaeus</i>	Europa, Norte e Sul da África,	Mosca-branca	1994	Grande escala
<i>Nesidiocoris tenuis</i>	Europa, Norte da África, Ásia	Mosca-branca, lepidópteros	2003	Grande escala

\*Média escala= 10.000 a 100.000 indivíduos vendidos/semana; Grande escala= 100.000 a milhões de indivíduos vendidos/semana.

No Brasil, três espécies de mirídeos predadores, *Campyloneuropsis infumatus* (Carvalho), *Engytatus varians* (Distant) e *Macrolophus basicornis* (Stal) estão sendo estudadas e avaliadas como promissores agentes de controle biológico de *T. absoluta* e outras pragas do tomateiro (BUENO et al., 2013).

**Família Nabidae** – Nesta família o gênero *Nabis* (Latreille) apresenta espécies predadoras como *N. alternatus* (Parshley), *N. americaniformis* (Carayon), *N. ferus* (L.) e *N. pseudoferus ibericus* Renane (BUENO; ZANUNCIO, 2009). Esta última espécie é referida por Lenteren (2012) como em uso na Europa contra o lepidóptero *T. absoluta* desde o ano de 2009, e sendo produzida em pequena escala, ou seja, 1000 a pouco mais e 1000 indivíduos vendidos por semana.

**Família Geocoridae** - Particularmente a espécie *Geocoris punctipes* (Say) é encontrada em diversos cultivos predando afídeos, moscas brancas, larvas de coleópteros, ovos e larvas de lepidópteros (CROCKER; WHITCOMB, 1980), e ninfas de *Lygus* (Hemiptera: Miridae). Outras duas espécies *G. pallens* (Stal) e *G. atricolor* Montandon, ambas de origem neártica, são descritas como predadores do tripses *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (RIUDAVETS, 1995). Trabalhos têm demonstrado possibilidades do potencial de *G. punctipes* como agente de controle biológico (BUENO et al., 2013; BUENO; ZANUNCIO, 2009; SWEET, 2000). Lenteren (2012) relata que *G. punctipes* é usada e produzida em pequena escala nos EUA contra lepidópteros e mosca-branca desde o ano 2000.

**Família Pentatomidae** – A família Pentatomidae consiste de aproximadamente 300 espécies predadoras (sub-família Asopinae) e seu tamanho varia de 6 a 14 mm. Dentro da família destacam-se as espécies *Podisus maculiventris* (Say) e *Perillus bioculatus* (Fabricius) nos EUA e Europa; *Podisus nigrispinus* (Dallas), *Brontocoris tabidus* (Signoret) e *Supputius cincticeps* (Stal) na América do Sul; e *Eocanthecona furcellata* (Wolff) no Sudeste da Ásia e Índia (DE CLERCQ, 2000).

Espécies comercializadas em pequena escala (1000 a pouco mais de 1000 indivíduos vendidos/semana) e usadas como agentes de controle biológico são *B. tabidus*, *Picromerus bidens* (Linnaeus) (Europa), *P. maculiventris* e *P. nigrispinus* (LENTEREN, 2011). No Brasil *P. nigrispinus* e *B. tabidus* são criados e liberados para o controle biológico de lagartas desfolhadoras em plantios de *Eucalyptus* spp. (TORRES et al., 2006), em particular por laboratórios presentes em empresas de reflorestamento.

### Diptera

A ordem Diptera apresenta três espécies de predadores que estão entre as 12 principais mais usadas e comercializadas ao redor do mundo (Tabela 1). Dentro da família Cecidomyidae, *Aphidoletes aphidimyza* (Rondani) (Figuras 13A, 13B) ocupando o segundo lugar na lista dos mais usados, vendido em larga escala como agente de controle de pulgões. *Feltiella acarisuga* (Vallot) (Figuras 14 A, 14B) no nono lugar, produzida em media escala para o controle de ácaros em vários cultivos. Também destaque na ordem Diptera para a família Syrphidae, com a espécie *Episyrphus balteatus* De Geer (Figura 15), a qual ocupa a décima segunda posição (Tabela 1) e é comercializada em mais de 15 países para o controle biológico de pulgões (Tabela 6).

Foto: Bioplanet



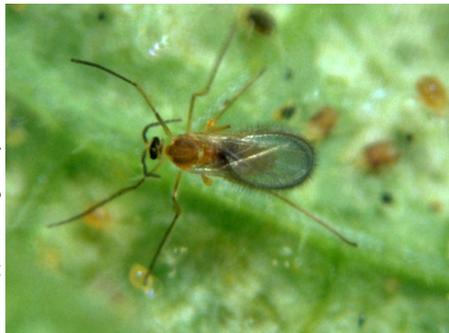
**Figura 13: A.** Adulto do díptero cecidomiideo *Aphidoletes aphidimyza*.

Foto: F. Bigler



**Figura 13: B.** Larva predadora do díptero cecidomiideo *Aphidoletes aphidimyza*.

Foto: Koppert Biological Systems



**Figura 14: A.** Adulto do díptero cecidomiideo *Feltiella acarisuga*.

Foto: Koppert Biological Systems



**Figura 14: B.** Larva predadora do díptero cecidomiideo *Feltiella acarisuga*.



Foto: Koppert Biological Systems

**Figura 15:** Adulto do díptero sirfideo *Episyrphus balteatus*.**Tabela 6:** Disponibilidade comercial de predadores Diptera, Neuroptera, Thysanoptera e Hymenoptera usados em controle biológico aumentativo ao redor do mundo (após Lenteren, 2012).

Predador	Classificação	Região onde é usada	Presa(s) (alvos)	Ano do 1º Uso (estimado)	*Valor do mercado
<i>Aeolothrips intermedius</i>	Thysanoptera	Europa	Tripes	2000	S
<i>Aleurodothrips fasciapennis</i>	Thysanoptera	Europa	Diaspidídeos	1990	S
<i>Aphidoletes aphidimyza</i>	Diptera	Europa, Norte e Sul da África, América do Norte, Ásia	Pulgões	1989	L

Continua...

**Tabela 6:** Disponibilidade comercial de predadores Diptera, Neuroptera, Thysanoptera e Hymenoptera usados em controle biológico aumentativo ao redor do mundo (após Lenteren, 2012).

Predador	Classificação	Região onde é usada	Presa(s) (alvos)	Ano do 1º Uso (estimado)	*Valor do mercado
<i>Chrysoperla</i> (= <i>Chrysopa</i> ) <i>carnea</i>	Neuroptera	Europa, Norte da África, América do Norte e Latina, Ásia	Pulgões	1970	M
<i>Chrysoperla externa</i>	Neuroptera	América Latina	Lepidópteros	1980	L
<i>Chrysoperla spp</i> <i>Peru</i>	Neuroptera	América Latina	Pulgões	1990	L
<i>Chrysoperla rufilabris</i>	Neuroptera	Europa, América do Norte	Pulgões	1970	S
<i>Episyrphus balteatus</i>	Diptera	Europa	Pulgões	1990	M
<i>Feltiella acarisuga</i> (= <i>Therodiplosis persicae</i> )	Diptera	Europa, América do Norte e Latina	Ácaros	1990	M
<i>Franklinothrips megalops</i> (= <i>myrmicaeformis</i> )	Thysanoptera	Europa	Tripes	1992	S
<i>Franklinothrips vespiformis</i>	Thysanoptera	Europa, Ásia	Tripes	1990	S

Continua...

**Tabela 6:** Disponibilidade comercial de predadores Diptera, Neuroptera, Thysanoptera e Hymenoptera usados em controle biológico aumentativo ao redor do mundo (após Lenteren, 2012).

Predador	Classificação	Região onde é usada	Presa(s) (alvos)	Ano do 1º Uso (estimado)	*Valor do mercado
<i>Karnyothrips melaleucus</i>	Thysanoptera	Europa	Diaspidídeos	1985	S
<i>Mallada signata</i>	Neuroptera	Austrália	Pulgões, tripses, lepidópteros, cigarrinhas, mosca-branca, etc.	2000	L
<i>Micromus angulatus</i>	Neuroptera	Koreia do Sul	Pulgões	2005	S
<i>Micromus tasmaniae</i>	Neuroptera	Austrália, Nova Zelândia	Pulgões, tripses, lepidópteros, mosca-branca, etc	2000	S
<i>Pheidole megacephala</i>	Hymenoptera	América Latina	Coleópteros	1990	L
<i>Scolothrips sexmaculatus</i>	Thysanoptera	Europa, América do Norte	Ácaros, tripses	1990	S
<i>Sympherobius fallax</i>	Neuroptera	Europa	Pseudococcídeos	1994	S

## Outras ordens

Menos representativos em termos de espécies, outros predadores usados como agentes de controle biológico estão presentes na Ordem Neuroptera, Família Chrysopidae (*Chrysoperla carnea* (Stephens), *Chrysoperla externa* (Hagen) e *Chrysoperla rufilabris* (Burmeister)); Ordem Thysanoptera, Famílias Aeolothripidae (*Franklinothrips megalops* Trybom, *Franklinothrips vespiformis* Crawford, *Aeolothrips intermedius* Bagnall e *Aleurothrips fasciapennis* (Franklin)) e Phlaeothripidae (*Karnyothrips melaleucus* Bagnall); e Ordem Hymenoptera, pela Família Formicidae (*Pheidole megacephala* Fabricius).

Neurópteros predadores têm como alvo principalmente pulgões e lepidópteros, sendo a espécie *C. externa* com 100.000 a milhões de indivíduos vendidos/semana na América Latina. Os tisanópteros são usados contra tripes e cochonilhas da família Diaspididae, em pequena escala em vários países; e os himenópteros representados pela formiga *P. megacephala* usados para o controle de coleópteros-praga na América Latina em grande escala (Tabela 6).

## Considerações finais

Os predadores têm cada vez mais demonstrado o valor como agentes de controle biológico tanto em sistemas de cultivos protegidos como em condições de campo, sendo efetivos no controle de pragas. Existe um crescente interesse no uso de predadores como agentes de controle biológico porque eles podem atacar mais de uma praga. Maior conhecimento quanto à ecologia das espécies

de predadores tem aumentado nos dias atuais. Muitos novos predadores poderão ser descobertos e usados em controle biológico. Predadores mostram uma clara hierarquia de preferência por diferentes presas. Apresentam plasticidade comportamental e de desenvolvimento para mudanças ambientais e densidades de presas. Doze espécies de predadores estão na seleção das principais espécies de inimigos naturais mais usadas e comercializadas ao redor do mundo para o controle de pragas em cultivos de alto valor econômico. Novas espécies estão entrando no mercado. Assim, fica claro que os predadores têm e terão um grande papel no campo do controle biológico de pragas.

## Referências

- ALBAJES, R.; ALOMAR, O. Facultative predators. In: CAPINERA, J. L. (Ed.). **Encyclopedia of entomology**. Dordrecht: Springer, 2008. p. 1400-1405.
- ALBAJES, R.; CASTANÉ, C.; GABARRA, R.; ALOMAR, O. Risks of plant damage caused by natural enemies introduced for arthropod biological control. In: BIGLER, F.; BABENDREIER, D.; KUHLMANN, U. (Ed.). **Environmental impact of invertebrates for biological control of arthropods: methods and risk assessment**. Oxon: CABI, 2006. p. 132-144.
- ALBAJES, R.; ALOMAR, O. Current and potential use of polyphagous predators. In: ALBAJES, R.; GULLINO, M. L.; LENTEREN, J. C. van; ELAD, Y. (Ed.). **Integrated pest and disease management in greenhouse crops**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1999. p. 265-275.
- ALMEIDA, L. M.; RIBEIRO-COSTA, C. S. Coleópteros predadores (Coccinellidae). In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. (Ed.). **Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. v. 1, p. 935-972.

BLOMMERS, L. H. M. Integrated pest management in European apple orchards. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 39, p. 213-241, 1994.

BRODEUR, J.; CLOUTIER, D.; GILLESPIE, D. Higher-order predators in greenhouse systems. **IOBC/WPRS Bulletin**, [S.l.], v. 25, p. 33-36, 2002.

BUENO, V. H. P. Desenvolvimento e criação massal de percevejos predadores *Orius*. In: BUENO, V. H. P. (Ed). **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. Lavras: Editora UFLA, 2009. p. 33-76.

BUENO, V. H. P.; LENTEREN, J. C. van; LINS JÚNIOR., J. C.; CALIXTO, A. M.; MONTES, F. C.; SILVA, D. B.; SANTIAGO, L. D.; PEREZ, L. M. New records of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) predation by Brazilian Hemipteran predatory bugs. **Journal Applied Entomology**, Berlin, v. 137, n. 1-2, p. 29-34 2013.

BUENO, V. H. P.; POLETTI, M. Progress with biological control and IPM strategies in protected cultivation in Brazil. **IOBC/WPRS Bulletin**, [S.l.], v. 49, p. 31-36, 2009.

BUENO, V. H. P.; ZANUNCIO, J. C. Percevejos predadores (Heteroptera). In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. (Ed.). **Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. v. 1, p. 870-934.

BUENO, V. H. P., LENTEREN, J. C. van Predatory bugs (Heteroptera). In: PANIZZI, A. R., PARRA, J. R. P. (Ed.). **Insect bioecology and nutrition for integrated pest management**. Boca Raton: CRC, 2012. p. 539-569.

CALVO, F. J.; BELDA, J. E. Uma nueva estratégia para el control biológico de mosca blanca y *Tuta absoluta* em tomate. **Phytoma**, Valencia, v. 216, p. 46-52, 2010.

CALVO, F. J.; BELDA, J. E. *Amblyseius swirskii*, un depredador para el control de la mosca blanca y trips en cultivos hortícolas. **Phytoma**, Valencia, v. 190, p. 58-63, 2007.

CALVO, J.; BOLCKMANS, K.; STANSLY, P.; URBANEJA, A. Predation by *Nesidio-coris tenuis* on *Bemisia tabaci* and injury to tomato. **Biocontrol**, Dordrecht, v. 54, n. 2, p. 237-246, 2009.

CASTANÉ, C.; ARNÓ, J.; GABARRA, R.; ALOMAR, O. Plant damage to vegetable crops by zoophytophagous mirid predators. **Biological Control**, Orlando, v. 59, n. 1, p. 22-29, 2011.

COCK, M. J. W.; LENTEREN, J. C. van; BRODEUR, J.; BARRATT, B. I. P.; BIGLER, F.; BOLCKMANS, K.; CONSOLI, F. L.; HAAS, F.; MASON, P. G.; PARRA, J. R. P. Do new access and benefit sharing procedures under the Convention on Biological Diversity threaten the future of biological control? **Biocontrol**, Dordrecht, v. 55, n. 2, p. 199-218, 2010.

COLL, M.; GUERSHON, M. Omnivory in terrestrial arthropods: mixing plant and prey diets. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 47, p.267-297, 2002.

CROCKER, R. L.; WHITCOMB, W. H. Feeding niches of the big-eyed bugs *Geocoris bullatus*, *G. punctipes* and *G. uliginosus* (Hemiptera: Lygaeidae: Geocorinae). **Environmental Entomology**, College Park, v. 9, n. 5, p. 508-513, 1980.

CROWDER, D. W. Impact of release rates on the effectiveness of augmentative biological control agents. **Journal of Insect Science**, v. 7, p. 1-11, 2007.

DE CLERCQ, P. Predaceous stinkbugs (Pentatomidae: Asopinae). In: SCHAEFER, C. W.; PANIZZI, A. R. (Ed.). **Heteroptera of economic importance**. Boca Raton: CRC, 2000. p. 737-786.

EUBANKS, M. D.; DENNO, R. F. Health food versus fast food: the effects on prey quality and mobility on prey selection by a generalist predator and indirect interactions among prey species. **Ecological Entomology**, Oxford, v. 25, n. 2, p. 140-146, 2000.

GABARRA, R.; ARNÓ, J.; RIUDAUVETS, J. Tomate. In: JACAS, J.; URBANEJA, A. (Ed.). **Control biológico de plagas agrícolas**. Valencia: Phytoma, 2008. p. 410-422.

GILLESPIE, D. R.; MCGREGOR, R. R. The functions of plant feeding in the omnivorous predator *Dyciphus Hesperus*: water places limit on predation. **Ecological Entomology**, Oxford, v. 25, n. 4, p. 380-386, 2000.

GRIFFITHS, D. A. Biological control of mites. In: ALBAJES, R.; GULLINO, M. L.; LENTEREN, J. C. van; ELAD, Y. (Ed.). **Integrated pest and disease management in greenhouse crops**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1999. p. 217-234.

HAGEN, K. S.; MILLS, N. J.; GORDH, G.; MCMURTRY, J. A. Terrestrial arthropod predators of insect and mite pests. In: BELLOWS, T.S.; FISHER, T.W. (Ed.). **Handbook of biological control**. San Diego: Academic Press, 1999. p. 383-503.

LENTEREN, J. C. van. The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. **BioControl**, Dordrecht, v. 57, n. 1, p. 71-84. 2012.

LENTEREN, J. C. van. **Ecology**: cool science, but does it help? Wageningen: Wageningen University, 2010. 44 p.

LENTEREN, J. C. van. Critérios de seleção de inimigos naturais. In: BUENO, V. H. P. (Ed.). **Controle biológico de pragas**: produção massal e controle de qualidade. Lavras: UFLA, 2009. p. 11-32.

LENTEREN, J. C. van; BIGLER, F.; BABENDREIER, D.; LOOMANS, A. J. M. *Harmonia axyridis*: an environmental risk assessment for Northwest Europe. **BioControl**, Dordrecht, v. 53, n. 1, p. 37-54. 2008.

LUNDGREN, J. C. Reproductive ecology of predaceous Heteroptera. **Biological Control**, Orlando, v. 59, n. 1, p. 37-52, 2011.

McMURTRY, J. A.; CROFT, B. A. Life-styles of phytoseiid mites and their roles in biological control. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 42, p. 291-321, 1997.

MARTINS, C. B. C.; ALMEIDA, L. M.; ZONTA-DE-CARVALHO, R. C.; CASTRO, C. F.; PEREIRA, R. A. *Harmonia axyridis*: a threat to brazilian Coccinellidae? **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 53, n. 4, p. 663-671, 2009.

MARTINEZ-CASCALES, J.vL.; CENIS, J. L.; CASSIS, G.; SANCHEZ, J. A. Species identity of *Macrolophus melanotoma* (Costa 1853) and *Macrolophus pygmaeus* (Rambur 1839) (Insecta: Heteroptera: Miridae) based on morphological and molecular data and bionomic implications. **Insect Systematic Evolution**, Stenstrup, v. 37, n. 4, p. 385-404, 2006.

MESSELINK, G. J.; VAN MAANEN, R.; VAN STEENPAAL, S. E. F.; RAMAKERS, P. M. J. Biological control of thrips and whiteflies by a shared predator: two pests are better than one. **Biological Control**, Orlando, v. 44, n. 3, p. 372-379, 2008.

MORAES, G. J.; BELLINI, M. R.; POLETTI, M. Qualidade de ácaros predadores fitoseídeos para uso em controle biológico. In: BUENO, V. H. P. (Ed.). **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. Lavras: UFLA, 2009. p. 297-310.

PIERRE, L. S. R.; BUENO, V. H. P.; SAMPAIO, M. V.; LENTEREN, J. C. van; DE CONTI, B. F.; SILVA, M. P. F.; SILVEIRA, L. C. P. Intraguild predation between *Orius insidiosus* (Say) and *Aphidius colemani* Viereck, and biological control of *Aphis gossypii* Glover. **IOBC/WPRS Bulletin**, [S.l.], v. 29, p. 219-222, 2006.

POLIS, G. A.; MYERS, C. A.; HOLT, R. D. The ecology and evolution of intraguild predation – potential competitors that eat each other. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 20, p. 297-330, 1989.

RIUDAVETS, J. Predators of *Frankliniella occidentalis* (Perg.) and *Thrips tabaci* Lind.: a review. In: LOOMANS, A. J. M.; LENTEREN, J. C. van; TOMMASINI, M. G.; MAINI, S.; RIUDAVETS, J. (Ed.). **Biological control of thrips pests**. Wageningen: Wageningen Agricultural University, 1995. p. 46-87.

ROSENHEIM, J. A.; KAYA, H. K.; EHLER, L. E.; MAROIS, J. J.; JAFFEE, B. A. Intraguild predation among biological-control agents: theory and evidence. **Biological Control**, Orlando, v. 5, n. 3, p. 303-335, 1995.

RUDOLF, V. H. W. The interaction of cannibalism and omnivory: consequences for community dynamics. **Ecology**, New York, v. 88, n. 11, p. 2697-2705, 2007.

SAMPSON, C.; JACOBSON, R. J. *Macrolophus caliginosus* Wagner (Heteroptera: Miridae): a predator causing damage to UK tomatoes. **IOBC/WPRS Bulletin**, [S.l.], v. 22, p. 213–316, 1999.

SWEET, M. H. Economic importance of predation by big-eyed bugs (Geocoridae). In: SCHAEFER, C. W.; PANIZZI, A. R. (Ed.). **Heteroptera of economic importance**. Boca Raton: CRC, 2000. p. 713-724.

TORRES, J. B.; ZANUNCIO, J. C.; MOURA, M. A. The predatory stinkbug *Podisus nigrispinus*: biology, ecology and augmentative releases for lepidopteran larval control in *Eucalyptus* forests in Brazil. **CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutritional and Natural Resources**, Cary, v. 1, p. 1-18, 2006.

URBANEJA, A.; MONTÓN, H.; MOLLÁ, O. Suitability of the tomato borer *Tuta absoluta* as prey for *Macrolophus pygmaeus* and *Nesidiocoris tenuis*. **Journal Applied Entomology**, Berlin, v. 133, n. 4, p. 292-296, 2009.

WACKERS, F.L. Food for thought: how to cater to the nutritional needs of biological control agents? **IOBC/WPRS Bulletin**, [S.l.], v. 32, p. 253-260, 2008.

## Controle Biológico de Ácaros

João A. M. Ferreira, Fredy A. Rodríguez-Cruz, Cleber M. Oliveira, Felipe Lemos, Madelaine Venzon e Angelo Pallini

---

### Introdução

Os ácaros são organismos usualmente pequenos e habitam uma ampla gama de ambientes. Representam o segundo maior grupo de artrópodes depois dos insetos e podem ocorrer no solo, em ambientes aquáticos, como parasitas de vertebrados e outros artrópodes, assim como em plantas cultivadas ou espontâneas (fitófagos).

Apesar de ter um número significativo de espécies fitófagas, são poucas as pragas consideradas de importância econômica no contexto da agricultura. Seu ataque acontece geralmente em folhas e frutos de seus hospedeiros. Ao danificar as folhas podem afetar diretamente as plantas por ocasionar a redução da área fotossinteticamente ativa levando a perdas na produção das plantas atacadas, e indiretamente transmitir doenças às plantas. Ao atacar frutos, estes podem perder valor para a sua comercialização *in natura*, ou qualidade com a perda de graus Brix, o que os tornam inaptos para fins industriais. Os ácaros fitofágos também podem danificar flores de espécies ornamentais.

## Principais ácaros-praga das culturas de importância econômica no Brasil e no mundo

Os ácaros danificam uma ampla variedade de espécies de plantas cultivadas no Brasil, tanto anuais como semi-perenes e perenes, atacando várias partes das plantas. Os principais ácaros-praga do Brasil pertencem às famílias Tetranychidae (ex. *Tetranychus urticae* Koch) (Figura 1), Tarsonemidae (ex. *Polyphagotarsonemus latus* Banks) (Figura 2) e Tenuipalpidae (ex. *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (MORAES; FLECHTMANN, 2008). Outras espécies que podem danificar culturas pertencem à superfamília Eriophyoidea (famílias Eriophyidae, Phytoptidae e Diptilomiopidae) (Figura 3) e a família Acaridae (MORAES; FLECHTMANN, 2008).



Foto: Felipe de Lemos

**Figura 1.** Adulto de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae).



Foto: Fredy Alexander Rodriguez Cruz

**Figura 2.** Adulto de *Polyphagotarsonemus latus* Banks (Acari: Tarsonemidae).

Fotos: Felipe de Lemos



**Figura 3.** Sintoma de ataque de indivíduos da superfamília Eriophyoidea em folhas de tomateiro. Foto: Felipe de Lemos

Os tetraniquídeos compreendem uma família relativamente grande, com mais de 1200 espécies descritas e apresentam uma ampla distribuição mundial (BOLLAND et al., 1998). São ácaros estritamente fitófagos e a grande maioria das espécies é polífaga e se alimenta de várias espécies de plantas. Uma característica marcante dessa família é a produção de teia sobre suas plantas hospedeiras, por vezes de maneira abundante, especialmente nos gêneros *Tetranychus* Dufour e *Oligonychus* Berlese. Atacam preferencialmente as

folhas maduras das plantas, desenvolvendo-se na face inferior. No entanto, em ataques severos podem desenvolver-se na face superior e atacar folhas em formação e frutos. As folhas que sofrem o ataque apresentam pontuações translúcidas como consequência do esvaziamento do seu conteúdo celular que é ocupado por ar. Em plantas de ciclo anual, um ataque severo provoca queda na produção, e em plantas de ciclo curto esse ataque pode levar as plantas à morte (KRIPS et al., 1998).

Com uma abrangência mundial, destacam-se as espécies: *T. urticae*, que ataca mais de 150 espécies de plantas com valor comercial (BOLLAND et al., 1998); *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval), que ataca até 120 espécies de plantas com valor econômico (ZHANG, 2003); *Tetranychus ludeni* (Zacher), que é considerada uma praga especialmente importante em feijão, berinjela e em algumas cucurbitáceas, podendo atacar mais de 300 espécies de plantas (ZHANG, 2003); *Tetranychus kanzawai* Kishida, principal ácaro-praga da cultura do chá na Ásia, e também pode atacar plantas ornamentais cultivadas e videira (CHANG; HUANG, 1995; HO; CHEN, 2001); *Tetranychus turkestanii* (Ugarov e Nikolshi), uma espécie polífaga, sendo registrada em mais de 180 espécies vegetais em nível mundial, porém ataca preferencialmente culturas de porte baixo, tais como berinjela, melão, feijão e morangueiro (BOLLAND et al., 1998; KHANJANI et al., 1999); *Tetranychus evansi* (Baker & Pritchard) (Figura 4), uma praga de solanáceas como batata e tomate e ocorre como problema principalmente na África e na Europa (FERRAGUT; ESCUDERO, 1999); *Eotetranychus lewisi* (McGregor), encontra-se distribuída especialmente na América do Norte, e ataca até 80 espécies vegetais, incluindo mamão no México e citros na Califórnia (EUA); *Panonychus citri* (McGregor) pode atacar até 80 espécies vegetais e é a mais recorrente praga dos citros e esporadicamente ataca videira e ornamentais (BOLLAND et al., 1998).



Foto: Felipe de Lemos

**Figura 4.** Adultos e ovos de *Tetranychus evansi* (Baker & Pritchard) (Acari: Tetranychidae).

No Brasil, as espécies consideradas como pragas de importância econômica são: *Oligonychus ilicis* (McGregor), que ataca o café, especialmente a variedade Conillon e ocasionalmente mudas de *Eucalyptus grandis* (FLECHTMANN, 1983); *Panonychus ulmi* (Koch), registrado atacando macieira (MORAES; FLECHTMANN, 2008); *Panonychus citri*, registrado em citros (FLECHTMANN; AMANTE, 1974), embora seus ataques sejam esporádicos; *Mononychellus tanajoa* (Bondar), registrado atacando mandioca e ocasionalmente maracujazeiro (MORAES et al., 1995) e *T. urticae*, que ataca mais de 20 espécies vegetais, incluindo grandes culturas como soja, algodoeiro e feijoeiro (MORAES; FLECHTMANN, 2008).

A família Tarsonemidae tem distribuição mundial e possui mais de 545 espécies catalogadas, dentre fungívoros, predadores e fitófagos. Seu tamanho é pequeno e varia de 100 a 300  $\mu\text{m}$ . As espécies de importância agrícola são fitófagas, e atacam principalmente as folhas da região apical da planta na sua face abaxial, embora possam atacar botões florais ou frutos em formação ao atingirem níveis populacionais elevados. O ataque se concentra em tecidos novos devido ao fato dos estiletos quelicerais desses ácaros serem curtos e não apropriados para a alimentação de tecidos maduros.

Ocasionalmente, a injeção de toxinas causa a proliferação de células adequadas para a alimentação do ácaro. Os tecidos atacados tornam-se descolorados, as folhas em expansão ficam estreitas, bronzeadas e retorcidas, retardando o crescimento da planta. Os botões florais e os frutos em formação ficam deformados. Em níveis elevados podem ocasionar a morte das plantas (MORAES; FLECHTMANN, 2008).

As espécies fitófagas geralmente estão restritas a poucas espécies vegetais com exceção de *P. latus*, que pode atacar mais de 60 famílias botânicas. Nessa família, ganham destaque também as espécies: *Phytonemus pallidus* (Banks), que ataca morangueiro e ornamentais e apresenta distribuição mundial (LIN; ZHANG, 2002) e *Steneotarsonemus laticeps* (Halbert), que ataca espécies ornamentais da família Amaryllidaceae (ZHANG, 2003).

A espécie mais importante da família é *P. latus*, que ataca mais de 20 espécies vegetais no Brasil, tais como o algodoeiro, a seringueira, a pimenteira e o feijoeiro (MORAES; FLECHTMANN, 2008). Um mecanismo utilizado pela espécie para sua dispersão a longa distância é a relação forética com moscas-brancas dos gêneros *Bemisia* e *Trialeurodes* (FAN; PETIT, 1998; PALEVSKY et al., 2001).

A família Tenuipalpidae pertence à superfamília Tetranychoidae, mas as espécies desta família não conseguem produzir teia como os ácaros da família Tetranychidae. Por esse motivo, os Tenuipalpidae são conhecidos como falsos-ácaros-de-teia ou ácaros-planos devido ao formato do corpo achatado. Essa família reúne cerca de 875 espécies já descritas e seu tamanho varia de 200 a 400 µm. Os gêneros *Tenuipalpus* e *Brevipalpus* são os mais importantes economicamente. No mundo, sobressaem as espécies *Brevipalpus obovatus* Dannadieu, que ataca citros podendo também atacar ornamentais como a gardênia. Distribuiu-se na Europa, Ásia, norte da África e norte da América do Sul (ALFORD, 1994); *B phoeni-*

*cis* ataca várias espécies de plantas e pode transmitir doenças vi-róticas, como a leprose dos citros e a mancha anular do cafeeiro (CHAGAS, 1988; REIS et al., 2000); *Tenuipalpus pacificus* Baker, ataca orquídeas, especialmente em áreas do Pacífico e orquídeas cultivadas em casa de vegetação na Europa (ALFORD, 1994).

No Brasil, duas espécies têm importância econômica: *Tenuipalpus heveae* Baker, que ataca seringueira e *B. phoenicis*, que pode ser vetor de vírus causadores de doenças em plantas, tais como a leprose dos citros e a mancha-anular do cafeeiro (CHAGAS, 1988). Esses ácaros atacam as folhas do seu hospedeiro, alimentam-se do conteúdo celular, tanto das células da epiderme, quanto das células do parênquima. As áreas atacadas apresentam manchas branco-prateadas ou cloróticas, levando à queda prematura da folha ou sua morte (MORAES; FLECHTMANN, 2008).

A superfamília Eriophyoidea possui aproximadamente 3.442 espécies descritas, sendo conhecidas como micro-ácaros devido ao seu reduzido tamanho (90 a 350  $\mu\text{m}$ ). Apresentam um corpo com formato fusiforme e possuem ampla distribuição mundial. Os ácaros pertencentes a esta superfamília têm um alto grau de especialização morfológica e biológica permitindo-lhes viver em lugares bastante confinados de seu hospedeiro, tais como nas bainhas das folhas, gemas, brotos ou galhas (MORAES; FLECHTMANN, 2008). O ataque acontece sobre as células epidérmicas, devido ao pequeno tamanho do seu estilete. Podem atacar as folhas, tanto a face adaxial quanto a abaxial. Outras espécies desta família vivem protegidas em estruturas naturais das plantas ou em estruturas desenvolvidas por elas (como galhas e iríneas), em resposta à injeção de substâncias tóxicas pelos ácaros (MORAES; FLECHTMANN, 2008). Como pragas, as famílias Eriophyidae e Phytoptidae ocorrem no Brasil. A primeira é composta por 2.607 espécies descritas, as quais são estritamente fitófagas (MORAES; FLECHTMANN, 2008).

Sobressaem como pragas mundialmente reconhecidas as espécies: *Aculops lycopersici* (Massei), que ataca tomateiro na Europa e no Brasil, podendo também atacar outras solanáceas como o fumo e a batata (LEUPRECHT, 2000); *Aceria lycopersici* (Wolffenstein), que ataca tomateiro e eventualmente outras solanáceas (ZHANG, 2003) e *Aceria litchii* (Keifer), principal ácaro-praga da lichia na Austrália, China, Havaí, Índia, Paquistão e Taiwan (HUANG, 2008; JEPSON et al., 1975; SABELIS; BRUIN, 1996; WAITE; HWANG, 2002). *A. litchii* foi relatada pela primeira vez no Brasil no ano de 2008 em pomares na região de São Paulo (RAGA et al., 2010).

No Brasil, as espécies que atingem o nível de praga são *Calacarus heveae* Feres, que ataca a seringueira; *Aceria guerreronis* Keifer, conhecido como o ácaro da necrose do coqueiro, com ampla distribuição por coqueirais de todo o litoral nordeste brasileiro, além de ocorrência em países da Ásia (LAWSON-BALAGBO et al., 2008); e *A. lycopersici* que ataca o tomateiro.

A família Phytoptidae abriga espécies associadas a palmeiras sem causar um elevado prejuízo econômico. Uma exceção é a espécie *Retracrus jhonstoni* Keifer, que causa dano significativo na pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth) no Brasil, que é destinada à produção de palmito e que tem grande valor nos mercados externo e interno. As áreas atacadas apresentam um amarelamento progressivo que pode aumentar para toda a superfície da folha causando sua morte ou queda (FERREIRA, 1997; GONDIM JUNIOR; MORAES, 2003).

## Ácaros predadores

Os principais inimigos naturais dos ácaros-praga também são ácaros e estes possuem hábitos de vida e alimentar diversificados. A quase totalidade dos ácaros predadores estudados e usados como

agentes de controle biológico de outros ácaros compreendem-se em quatro famílias: Phytoseiidae, Laelapidae, Ascidae e Stigmaeidae. Nesta seção, será feita uma breve revisão sobre essas principais famílias de ácaros predadores, abordando seus aspectos biológicos, ecológicos e morfológicos. Serão explorados, também, resultados de trabalhos que vêm sendo realizados no Brasil, visando à utilização dos ácaros predadores para o controle de ácaros-praga.

### **Phytoseiidae**

A família Phytoseiidae está dividida em três subfamílias: Amblyseiinae, Phytoseiinae e Thyphlodrominae. Apesar de existirem agentes de controle biológico comerciais pertencentes às três subfamílias, as espécies mais comercializadas são dos gêneros *Neoseiulus* e *Phytoseiulus*, que se concentram na subfamília Amblyseiinae. Phytoseiidae é a principal família de ácaros predadores utilizados para o controle biológico de ácaros-praga no Brasil e no mundo, contando com mais de 2.250 espécies descritas em 67 gêneros (MORAES et al., 2004). Os ácaros dessa família apresentam um diversificado hábito alimentar. Algumas espécies são estritamente predadoras e altamente especializadas em um único gênero de presas (por exemplo, ácaros predadores do gênero *Phytoseiulus* são especialistas em predação de ácaros do gênero *Tetranychus*) (MCMURTRY; CROFT, 1997). Outras espécies de fitoseídeos são frequentemente associadas a espécies fitófagas que produzem densas teias sobre as plantas hospedeiras, como por exemplo, os ácaros predadores dos gêneros *Galendromus*, a maioria das espécies do gênero *Neoseiulus* e algumas poucas espécies do gênero *Typhlodromus* (MCMURTRY; CROFT, 1997). Um terceiro grupo de ácaros Phytoseiidae é considerado predador generalista e pode ser representado pela maioria das espécies dos gêneros *Amblyseius* e *Typhlodromus* (MCMURTRY et al., 2013). Um último grupo dos ácaros Phytoseiidae é especialista em pólen e também predador

generalista. São representados principalmente por espécies do gênero *Euseius* (MCMURTRY et al., 2013).

Os ácaros da família Phytoseiidae têm recebido muita atenção nas últimas décadas devido ao seu potencial como agentes de controle biológico de ácaros fitófagos e mais recentemente de outros artrópodes como tripes e mosca-branca (NOMIKOU et al., 2001). Estão alocados na ordem Mesostigmata e são geralmente predadores de outros ácaros ou insetos fitófagos. Algumas espécies também se alimentam de nematoides, esporos de fungos e exsudatos de plantas. Porém, raramente espécies dessa família irão se alimentar de tecidos de plantas. Muitas espécies dessa família são de grande importância para o controle biológico de ácaros e tripes em cultivos de ambiente protegido. Esse, sem dúvida, é o grupo de ácaros predadores mais comercializados no mundo para o controle biológico.

Dentro da ordem Mesostigmata, os fitoseídeos são considerados de tamanho médio, sendo que a maioria varia de 0,25 a 0,40 mm de comprimento. Normalmente, eles apresentam pernas longas em relação ao tamanho do corpo. O ciclo de vida consiste dos estágios de ovo, larva, protoninfa, deutoninfa e adulto. Os ovos normalmente necessitam de um ambiente onde a umidade relativa do ar seja alta (entre 70 a 100%) para que as larvas possam eclodir. Em algumas espécies, as larvas nunca se alimentam e somente a partir do estágio de protoninfa é que começam a se alimentar. De modo geral, os ácaros predadores dessa família apresentam um desenvolvimento mais rápido do que suas presas tetraniquídeas. Para algumas espécies do gênero *Phytoseiulus*, o tempo de desenvolvimento de ovo a adulto pode ser completo em até quatro dias dependendo da temperatura.

O grande tamanho das pernas comparado a outros ácaros facilita o seu deslocamento rápido, o que permite cobrir pequenas distâncias com rapidez e facilidade. Esses ácaros caminham com habilidade

sobre a superfície de folhas e ramos de plantas, sobre a teia de ácaros fitófagos e na superfície do solo (RAWORTH et al., 1994; TAKAFUJI, 1977). Entretanto, a dispersão a longas distâncias é feita de forma passiva principalmente pelo vento (SABELIS; DICKE, 1985), mas também podem ser carregados por outros animais (fóressia) (FAIN; KRANTZ 1990; KRANTZ, 1973).

Os ácaros da família Phytoseiidae possuem pseudo-arrenotoquia, na qual o acasalamento é necessário para a reprodução. Entretanto, há algumas poucas espécies com reprodução telitoca onde machos não são observados na população. A razão sexual das populações gira em torno de três fêmeas para cada macho. A taxa reprodutiva diária depende da espécie em questão e pode ainda variar com outros fatores externos como temperatura, idade e qualidade do alimento, porém varia entre um a três ovos por fêmea por dia (GERSON et al., 2003).

Do ponto de vista econômico, essa é a principal família de ácaros predadores comercializados. Destaca-se a espécie *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot que há décadas vem sendo comercializada em todo o mundo para ser usada como agente de controle biológico, principalmente do ácaro-rajado. No Brasil, houve uma tentativa de introdução de *P. persimilis*, porém o predador não se adaptou bem às condições ambientais brasileiras (MORAES; MCMURTRY, 1986). Entretanto, outra espécie do mesmo gênero, *Phytoseiulus macropilis* (Banks) (Figura 5), já está sendo comercializada e tem se mostrado muito eficiente para o controle de ácaro-rajado (*T. urticae*), principalmente em cultivos de morango (OLIVEIRA et al., 2007; PAULA JÚNIOR et al., 2009).



Foto: Felipe de Lemos

**Figura 5.** Adulto de *Phytoseiulus macropilis* (Banks) (Acari: Phytoseiidae) predando *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae).

### Laelapidae

A família Laelapidae é uma grande família com ampla distribuição mundial pertencente à ordem Mesostigmata. Ácaros Laelapidae são geralmente bastante esclerotizados, o que lhes confere uma coloração amarronzada quando adultos, e apresentam tamanhos variando de médio a grande. Ácaros dessa família incluem alguns parasitas de vertebrados, sendo que alguns desses atacam animais domésticos e são de importância veterinária. Existem também predadores de vida-livre comumente encontrados no solo como, por exemplo, espécies dos gêneros *Hypoaspis* e *Stratiolaelaps* (WALTER; CAMPBELL, 2003). Algumas dessas espécies têm demonstrado seu alto potencial como agentes de controle biológico de pragas de ambiente protegido e muitas espécies se encontram atualmente em produção comercial em países do hemisfério norte (WALTER; CAMPBELL, 2003).

Nessa família, as espécies *Hypoaspis aculeifer* e *Stratiolaelaps (Hypoaspis) miles* (Berlese) têm sido amplamente estudadas quanto ao seu uso para o controle de ácaros e insetos-pragas habitantes de solo. *Hypoaspis aculeifer* é citado em trabalhos fora do Brasil

como um ótimo agente de controle biológico do ácaro do bulbo *Rhizoglyphus robini* Claparede (Acari: Astigmata), uma importante praga de bulbo de lírio (LESNA et al., 1996). Os ácaros predadores *S. miles* e *H. aculeifer* foram estudados também para o controle biológico de tripses. O tripses *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) é um fitófago da parte aérea da planta, porém seu ciclo de vida inclui a passagem pelo solo em três instares imaturos. Durante o período de pré-pupa e de pupa no solo, *F. occidentalis* foi considerada uma boa presa para os ácaros predadores *S. miles* e *H. aculeifer* (BERNDT et al., 2004).

No Brasil, outra promissora utilização de ácaros predadores da família Laelapidae é no controle biológico de larvas de “fungus gnats” *Bradysia matogrossensis* (Lane) (Diptera: Sciaridae). Essas larvas são consideradas o principal problema fitossanitário no cultivo de cogumelos como *Agaricus blazei* (Murrill) ss. Heinemann e *Agaricus bisporus* (Lange), no Brasil. Estudos conduzidos com a espécie *Stratiolaelaps scimitus* (Womersley) mostraram que esse predador foi capaz de reduzir significativamente a população de larvas de “fungus gnats” a níveis populacionais que não representam um problema na produção comercial de cogumelos (CASTILHO et al., 2009; FREIRE et al., 2007). Já existem trabalhos indicando formas eficientes para a produção massal de *S. scimitus* (FREIRE; MORAES, 2007), facilitando, assim, a utilização desses predadores em larga escala pelos produtores de cogumelo no Brasil.

### **Ascidae**

Ascidae também é uma família de ácaros predadores pertencente à ordem Mesostigmata. São ácaros predadores presentes no solo e sobre as plantas ou são encontrados em associação com outros animais. Variam de tamanho pequeno a médio, apresentam frequentemente tons pálidos, com coloração variando de amarelo a

marrom. São ácaros que apresentam um grande número de setas no escudo dorsal, variando de 25 a 45 pares conforme a espécie. Muitas espécies de ácaros da família Ascidae se mostram promissores como agentes de controle biológico de pragas habitantes de solo, como por exemplo, os nematóides em cultivos de ambiente protegido.

Provavelmente *Proctolaelaps* é o gênero de ácaros da família Ascidae de maior importância atualmente no Brasil. Diversos estudos têm sido conduzidos com predadores desse gênero, principalmente em sistemas de produção de coco, devido à sua importância como reguladores das populações da principal praga do coqueiro, *A. guerreronis*.

Em levantamento da acarofauna do coqueiro no Brasil, feita entre os anos de 2000 e 2003, foram encontradas duas espécies de ácaros predadores da família Ascidae associados a colônias do ácaro fitófago *A. guerreronis* (NÁVIA et al., 2005). Esse foi o primeiro relato de ocorrência das espécies *Proctolaelaps longipilis* Chant e *Proctolaelaps* sp em frutos de coco (NÁVIA et al., 2005) e esses predadores podem ser fortes candidatos a agentes de controle biológico de *A. guerreronis*.

Em outro estudo da dinâmica de ácaros predadores associados a *A. guerreronis*, Reis et al. (2008) encontraram cinco diferentes espécies de Ascidae em frutos de coqueiro. Porém, esses predadores foram observados em baixa abundância e prevalência nos frutos de coco ao longo de 12 meses de observação. Entretanto, os autores discutem que os ácaros Ascidae observados são capazes de preda indivíduos de *A. guerreronis* somente quando estes não se encontram abrigados dentro das brácteas dos frutos (REIS et al., 2008).

Uma nova espécie de Ascidae, *Proctolaelaps bulbosus* Moraes, Reis & Godim Jr., foi descrita no Brasil, associada a *A. guerreronis*

também em frutos de coco (MORAES et al., 2008; LAWSON-BALAGBO et al., 2008). Esta espécie apresentou um alto crescimento populacional quando alimentado com *A. guerreronis* (GALVÃO et al., 2011), indicando seu potencial de utilização para o controle dessa praga do coqueiro.

Outra espécie de Ascidae que vem sendo estudada para o controle de *A. guerreronis* em coqueiro é o ácaro predador *Proctolaelaps bickleyi* Bram. Em estudos de comportamento, *P. bickleyi* apresentou uma atração positiva a voláteis de partes da planta do coqueiro infestadas por *A. guerreronis*, indicando que esses predadores também são capazes de usar voláteis de plantas para localizar suas presas (MELO et al., 2011). Porém, esses predadores são mais comumente encontrados em frutos de coco abortados, distribuídos sobre o solo (LIMA et al., 2012). Adicionalmente, estudos de biologia mostraram que *P. bickleyi* apresenta bons parâmetros biológicos e reprodutivos quando alimentado com *A. guerreronis* (LAWSON-BALAGBO et al., 2007). Entretanto, foi observado que *P. bickleyi* apresenta uma baixa taxa predatória sobre *A. guerreronis*, e que esta característica pode ser um fator que impede o estabelecimento da população do predador e um controle biológico estável em longo prazo (LIMA et al., 2012).

### Stigmaeidae

Stigmaeidae pertence à ordem Prostigmata. É uma família cosmopolita e composta por aproximadamente 400 espécies distribuídas em 25 gêneros. São considerados ácaros de tamanho pequeno a médio, com comprimento do corpo variando de 0.09 a 0.35 mm na maioria das espécies. Costumam ter um formato ovoide ou arredondado e apresentam coloração variando entre amarelo, laranja ou vermelho. A sua dispersão a longas distâncias é feita principalmente pelo vento.

Dentro da família Stigmaeidae, o gênero *Agistemus* se destaca em importância como agente de controle biológico de ácaros fitófagos no Brasil. A espécie *Agistemus floridanus* Gonzales, por exemplo, é encontrada em altas populações associada a ácaros fitófagos da seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) como *T. heveae* (Acari: Tenuipalpidae) e *C. heveae* (Acari: Eriophyidae) (FERLA; MORAES, 2002). Esse predador apresenta bons parâmetros biológicos e reprodutivos quando alimentado com *T. heveae*, indicando seu potencial de utilização como agente de controle biológico dessa praga (FERLA; MORAES, 2003). Porém, devido a dificuldade de se conseguir altas quantidades de *A. floridanus* para a liberação massal, Ferla e Moraes (2003) recomendam a utilização de estratégias de controle biológico inoculativo ou conservativo. Essas estratégias poderiam ajudar a manter o nível populacional das espécies de ácaros fitófagos em cultivos de seringueira abaixo do nível de dano econômico.

Outra espécie que vem sendo estudada é *Agistemus brasiliensis* Matioli, Ueckermann & Oliveira (Acari: Stigmaeidae). Esse predador vem sendo explorado por seu potencial como agente de controle biológico do ácaro plano *B. phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) em culturas como citros e café. O predador tem apresentado bons parâmetros biológico, reprodutivo e predatório quando alimentado com *B. phoenicis* (MATIOLI; OLIVEIRA, 2007). Outros trabalhos com essa espécie predadora têm avaliado sua tolerância a agrotóxicos visando determinar quais produtos são mais seletivos e podem ser usados em lavouras de citros que afeta menos *A. brasiliensis* (SILVA et al., 2009).

## Outros inimigos naturais de ácaros

### Fungos

Além de ácaros predadores, outros artrópodes e microrganismos podem ser utilizados no controle de ácaros-praga. Nesta seção, lista-se alguns grupos de insetos e microrganismos que podem ser úteis no controle de ácaros fitófagos em sistemas agrícolas.

Dentre os organismos controladores de pragas, os fungos entomopatogênicos são citados como sendo promissores no manejo de ácaros-praga em diversas culturas. Sua aplicabilidade tem se justificado principalmente devido à facilidade de cultivo sob condições laboratoriais e devido à possibilidade de aplicação dos fungos via pulverizadores comumente utilizados no manejo agrícola convencional (ALVES, 1998).

Quando infectados por fungos, os ácaros apresentam corpo descolorido e endurecido. Posteriormente, o cadáver fica coberto por micélio fúngico e em estágios mais avançados há o desenvolvimento de esporos do patógeno. Tais características tornam fáceis os diagnósticos dos indivíduos mortos por ação fúngica (POINAR JUNIOR; POINAR, 1998).

Os fungos entomopatogênicos não são seletivos aos ácaros predadores, entretanto, estes frequentemente são tolerantes às linhagens que infectam suas presas. No geral, quando há alta mortalidade de ácaros fitófagos, pode-se ocasionar o declínio populacional dos ácaros predadores em decorrência de menor disponibilidade de alimento (POINAR JUNIOR; POINAR, 1998).

A suscetibilidade do hospedeiro a um fungo patogênico é influenciada por vários fatores dentre os quais se destacam a variabilidade genética do patógeno, a variabilidade genética do hospedeiro, a planta hospedeira do ácaro e os fatores ambientais (BUGEME et al., 2009; HAJEK et al., 2007; WEKESA et al., 2011). Dentre os

fatores ambientais, temperatura, umidade relativa, fotoperíodo e intensidade luminosa são os que mais afetam a virulência de isolados fúngicos (WEKESA et al., 2011).

O fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill é estudado em todo o mundo há anos como agente de controle biológico de insetos. Nas últimas duas décadas, o potencial desse fungo como agente de controle de populações de ácaros-praga em culturas agrícolas foi destacado e amplamente explorado (ALVES et al., 2005b). No Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, já se encontra registrado um bioinseticida à base de *B. bassiana* com ação acaricida. O produto é recomendado para o controle do ácaro-rajado (*T. urticae*) na cultura do crisântemo. Além de *B. bassiana*, as espécies *Metarhizium anisopliae*, *Lecanicillium* sp. e *Neozygites tanajoae* são também foco de diversas pesquisas no Brasil (DELIBERA JUNIOR et al., 1992; MASCARIN; PAULI, 2010).

Alves et al. (2005b) avaliaram a patogenicidade de *B. bassiana* (ESALQ-447) sobre o ácaro da ferrugem do citros *Phyllocoptruta oleivora* Ashmead (Acari: Eriophyidae) coletado em pomar de laranja “Pêra Rio” em que não era feito o uso de agrotóxicos. Foram realizados testes para avaliar a mortalidade da presa nas concentrações que variavam de  $1 \times 10^8$  a  $1 \times 10^6$  conídios/mL. A mortalidade dos indivíduos foi observada por 5 dias. Os autores destacaram um aumento na mortalidade de *P. oleivora* a partir do segundo dia da aplicação de *B. bassiana* até o quinto dia, concluindo que ocorreu a infecção do hospedeiro nas primeiras 24 horas. O isolado de *B. bassiana* mostrou-se eficiente no controle do ácaro da ferrugem-do-citros nas concentrações  $5 \times 10^6$  e  $1 \times 10^7$  conídios/mL.

O fungo entomopatogênico *Hirsutella thompsonii* Fischer tem a capacidade de infectar espécies de eriofídeos em várias culturas de maneira natural. Fernando et al. (2007) avaliaram quatro isolados deste fungo originários do Sri Lanka para o controle de *A. guerrero-*

*nis* em coqueiro nas concentrações  $1 \times 10^6$  conídios/mL, aplicados duas vezes, com intervalo de aplicação de 15 dias. Após duas semanas da última aplicação, as áreas tratadas com três dos quatro isolados apresentavam baixas populações do eriofídeo. Mycohit é uma formulação comercial de *H. thompsonii* disponível na Índia. O produto tem sido efetivo em condições de laboratório e campo na Índia, com controle de até 80% das populações de *Aceria guerronis* (KUMAR, 2010; KUMAR; SINGH, 2008).

A capacidade do fungo infectar várias espécies de artrópodes é importante para a sua sobrevivência, pois o torna menos suscetível à variação populacional de uma só espécie hospedeira, além de refletir uma maior possibilidade de sucesso no seu uso em controle biológico de pragas. *Neozygites floridana* (Weiser e Muma) é um importante fungo entomopatogênico que naturalmente infecta mais de 18 espécies de ácaros da família Tetranychidae em todo o mundo. Ribeiro et al. (2009) estudaram a patogenicidade de cinco linhagens desta espécie de fungo aos ácaros fitófagos de relevante importância econômica, *M. tanajoa*, *Tetranychus abacae* (Baker e Pritchard), *T. armipenis* (Flechtmann e Baker), *T. urticae*, *T. evansi*, *Schizotetranychus sacharum* (Flechtmann e Baker) e *T. ludeni*. Foi observado que cada linhagem de *N. floridana* foi patogênica a três ou quatro espécies de ácaros testados. Entretanto, nenhum isolado testado foi patogênico à *S. sacharum* e apenas um dos isolados infectou *T. abacae*.

Mascarin e Pauli (2010) citam alguns pontos fundamentais para o desenvolvimento e sucesso de micopesticidas, como a possibilidade de produção massal de propágulos infectivos e viáveis, a formulação do bioproduto, seleção de cepas fúngicas virulentas, formas de aplicação compatível com as tecnologias utilizadas pelos produtores e uso de práticas culturais conservacionistas. A produção massal de propágulos infectivos deve ser realizada de forma econômica e a formulação do bioproduto deve ser apropriada de forma

que garanta boa estabilidade e confira proteção ao fungo contra as intempéries climáticas, aumentando sua eficiência de ação contra o hospedeiro.

### Outros inimigos naturais de ácaros

Bactérias, como *Bacillus thuringiensis* Berliner, utilizadas para controle de outros artrópodes-pragas, podem também afetar as populações de ácaros fitófagos, porém ainda não há no Brasil trabalhos específicos em relação ao controle destes fitófagos com bactérias. O conhecimento sobre os vírus, assim como bactérias, que infectam ácaros é escasso e não explorado no Brasil. Trabalhos realizados em outros países demonstraram que a infecção por vírus causa efeitos sub-letais nos ácaros, levando, na maioria das vezes, à baixa mortalidade. No entanto, esta ação sub-letal pode levar ao controle dos ácaros possivelmente devido a baixa fertilidade dos mesmos. Ácaros infectados por vírus em alguns casos podem apresentar sintomas de diarreia e, quando mortos, muitas vezes ficam presos à superfície da folha por uma mancha de material resinoso preto que foi excretada através do ânus (GEEST et al., 2000).

Além do potencial uso de entomopatógenos, as populações de ácaros fitófagos podem ser controladas por outros artrópodes. Alguns coleópteros se alimentam de ácaros, como algumas espécies de *Stethorus* que estão sendo utilizadas para o controle de algumas espécies de tetraniquídeos em casa-de-vegetação (HOUCK, 1991; PETERSON et al., 2000). No Brasil, a espécie *Stethorus tridens* Gordon é um possível regulador populacional de ácaros da espécie *T. evansi*. Britto et al. (2009) estudaram a resposta funcional e reprodutiva de *S. tridens* alimentando-se de *T. evansi*. Esses dois parâmetros são, em geral, utilizados para prever o potencial da espécie, em regular as populações de fitófagos e testam o potencial reprodutivo do predador quando alimentado de determinada dieta.

Os autores fizeram testes variando a densidade de presas e avaliaram o potencial reprodutivo do predador e a capacidade deste em suprimir a população da presa. Como resultado, foi observado o aumento da taxa de predação em função da densidade de presas e concluíram que *S. tridens* apresenta sucesso reprodutivo alimentando-se de *T. evansi*. Os dados de sucesso reprodutivo e tempo de ataque indicam que *S. tridens* é um promissor predador de *T. evansi*; entretanto, estudos complementares são requeridos para determinar o número de predadores necessários e o tempo de liberação do predador em condições de campo.

Existem na literatura trabalhos realizados em outros países sobre espécies de crisopídeos alimentando-se de ácaros fitófagos (FREITAS, 2002). Estes predadores são capazes de controlar eficientemente populações da praga. Porém, não foram encontrados na literatura trabalhos demonstrando a eficiência destas espécies no Brasil.

### **Estratégias para o controle biológico conservativo de ácaros-praga**

O controle biológico de ácaros-praga também pode ser efetivado considerando-se as plantas presentes no agroecossistema, sejam elas cultivadas ou não. Essas plantas podem fornecer alimento aos ácaros predadores em situações de baixa disponibilidade de presas, favorecendo sua manutenção nessas plantas durante momentos de escassez de alimento. Dentre esses alimentos suplementares estão incluídos os grãos de pólen de algumas flores, ou o néctar floral e extrafloral produzidos pelas plantas. Ainda, algumas plantas fornecem abrigos para ácaros predadores, diminuindo, assim, riscos de predação por outros predadores, principalmente insetos. Dessa forma, a manipulação do ambiente também deve ser con-

siderada como ferramenta para aumentar a eficiência de controle desses agentes sobre as espécies-praga. As táticas de uso das plantas no controle biológico de ácaros estão inseridas no contexto do controle biológico conservativo. Abaixo, observamos alguns atributos de plantas e seu favorecimento à população de ácaros predadores.

### Pólen

Plantas em geral podem interagir com inimigos naturais fornecendo algum tipo de alimento (RIJN et al., 2002; SABELIS et al., 1999). Muitas delas produzem pólen em suas flores que são acessíveis a ácaros predadores e podem ser usadas como fonte de alimento suplementar. Um resultado dessa alimentação extra com pólen de plantas é o aumento da população de inimigos naturais sobre as plantas, causando assim um declínio na população de fitófagos. Algumas espécies de ácaros predadores também são conhecidas por se alimentarem de pólen de plantas. Um exemplo disso é o caso dos *Iphiseius degenerans* (Berlese) e *Neoseiulus cucumeris* (Oudemans) (Acari: Phytoseiidae) se alimentando de pólen de mamoneira (*Ricinus communis* L.) (RIJN; TANIGOSHI, 1999a, 1999b), com benefício para a sua sobrevivência e desempenho reprodutivo. Tal fato indica o possível uso desta planta em outros plantios comerciais com o objetivo de favorecer ácaros predadores.

No Brasil, o uso de pólen de plantas é muito comum para a manutenção de espécies predadoras em laboratório. O pólen mais comumente utilizado é o pólen de mamoneira. Vários trabalhos já demonstraram a viabilidade do uso de pólen de espécies vegetais para a manutenção de ácaros predadores. A espécie *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma (Acari: Phytoseiidae) é amplamente dispersa em várias plantas hospedeiras e está relacionada com diferentes ácaros-praga. Apesar de inúmeros trabalhos comprova-

rem sua capacidade predatória, a sua manutenção em laboratório é viável utilizando-se somente pólen de mamoneira (REIS; ALVES, 1997). Ácaros da espécie *Amblyseius herbicolus* (Chant) (Acari: Phytoseiidae) (Figura 6) são comumente encontrados em plantas de cafeeiro e são possíveis predadores das espécies *O. ilicis* e *B. phoenicis*, além de outros ácaros-praga em diversas culturas. Essa espécie também é mantida em laboratório e alimentada com pólen de mamoneira (REIS et al., 2007; RODRÍGUEZ-CRUZ et al., 2013). Outras espécies de plantas também produzem pólen de boa qualidade e são utilizadas para alimentação de ácaros predadores. Dentre essas podemos citar o pólen de taboa (*Typha angustifolia* L.), encontrado em abundância em suas flores e comumente utilizado para alimentação em laboratório das espécies *Amblyseius acalyphus* Denmark & Muma, *Amblyseius neochiapensis* Lofego, Moraes & McMurtry, *A. floridanus* e *Euseius concordis* (Chant) (FERLA; MORAES, 2003; LOFEGO; MORAES, 2005).

Foto: José Lino Neto/UFV



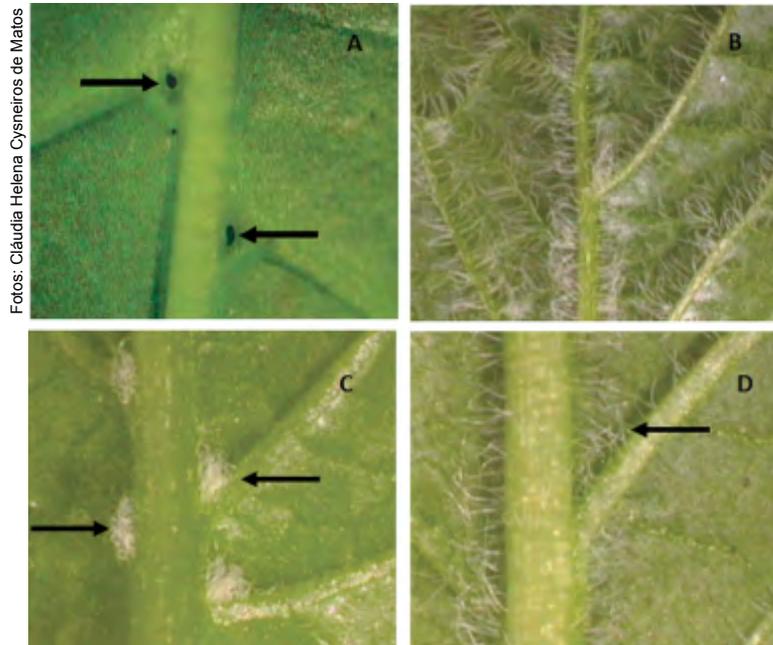
**Figura 6.** Adulto de *Amblyseius herbicolus* (Acari: Phytoseiidae).

## Néctar

Diversas espécies de plantas apresentam variações em sua morfologia foliar e algumas apresentam glândulas produtoras e secretoras de néctar. Essas glândulas são conhecidas como nectários extraflorais e produzem um líquido predominantemente rico em açúcares (DURKEE, 1982), além de carboidratos, aminoácidos, polissacarídeos e lipídeos (BAKER, 1977; BAKER; BAKER, 1973, 1983). Ácaros predadores são conhecidos por se alimentarem de néctar (RIJN; TANIGOSHI, 1999a, 1999b). Durante períodos de baixa disponibilidade de presas os ácaros predadores alimentam-se desse néctar, aumentando assim a chance de sobrevivência sobre a planta que fornece essa fonte suplementar de alimento e a habilidade de supressão de populações de herbívoros. Alguns trabalhos sugerem a utilização de plantas que possuem nectários extraflorais consorciadas em plantios comerciais, visando aumentar a disponibilidade de alimentos para ácaros predadores. Duad e Feres (2005) qualificaram e quantificaram a população de ácaros em plantas de *Mabea fistulifera* Mart. (Euphorbiaceae). Essa espécie vegetal possui nectários extraflorais que secretam substâncias açucaradas. Os autores observaram grande diversidade de ácaros predadores nessas plantas, especialmente na época seca do ano. Sugeriram que a maior abundância de ácaros predadores nessa época pode estar relacionada tanto com a presença de pólen quanto com a presença de nectários extraflorais, já que durante esse período a pluviosidade foi baixa. O trigo mourisco e a mamona foram estudados por Rosado (2007) visando seu uso no controle biológico conservativo. Essas duas espécies vegetais possuem nectários florais e extraflorais, respectivamente, que são utilizados por diversos insetos e ácaros predadores. Adicionalmente, essas espécies podem ser utilizadas consorciadas em plantios comerciais, aumentando assim a disponibilidade de alimentos suplementares a insetos e ácaros predadores.

## Abrigo

Além do fornecimento de alimento suplementar como pólen e néctar, inimigos naturais se beneficiam do fornecimento de abrigo pelas plantas. Os exemplos mais conhecidos de abrigos a inimigos naturais são espinhos e troncos ocos de plantas que são habitados por formigas predadoras que podem manter as plantas limpas do ataque de insetos herbívoros (BEATTIE, 1985). Algumas espécies de plantas possuem abrigos conhecidos como ácaro-domácias, que são estruturas localizadas nas bifurcações das nervuras na face abaxial de suas folhas. Essas estruturas variam de simples tufo de pelos até pequenas cavidades com uma minúscula entrada onde é possível apenas a passagem de ácaros (TURNER; PEMBERTON, 1987; WALTER, 1996; WALTER; O'DOWD, 1992) (Figura 7).



**Figura 7.** Domácias foliares: (A) domácia em formato de cavidade em folhas de cafeeiro; (B), (C) e (D) domácias em folhas de pimenteiros

Vários trabalhos evidenciaram que ácaros predadores se beneficiam dos abrigos (domácias) oferecidos pelas plantas. A observação mais simples é que em folhas com a presença de domácias a população de ácaros predadores é maior do que em folhas sem domácias (GROSTAL; MATOS et al., 2004; O'DOWD, 1994). Vários estudos tentaram identificar quais os tipos de proteção seriam oferecidos aos predadores através do uso dessas estruturas. Dentre esses, domácias podem proteger os ovos de ácaros contra ambientes com baixa umidade, já que ovos de ácaros predadores são extremamente sensíveis a essas situações (BAKKER et al., 1993; FARAJI et al., 2002; GROSTAL; O'DOWD, 1994). As domácias também podem fornecer proteção contra predação (FARAJI et al., 2002), predação intraguilda (FERREIRA et al., 2011; NORTON et al., 2001) e canibalismo (FERREIRA et al., 2008). Contudo, ainda não é tão claro o fato de que plantas com abundância de domácias abrigam grandes populações de ácaros predadores. Plantas de pimenta e pimentão possuem domácias na forma de tufo de pelos. Essas estruturas foram responsáveis pela redução na taxa de canibalismo e de predação intraguilda entre ácaros predadores (FERREIRA et al., 2008, 2011). Assim, haveria uma proteção destes predadores nessas plantas e aumento da população, com consequente redução dos ácaros herbívoros. Plantas de café também possuem domácias em suas folhas, contudo essas são na forma de cavidades (FERREIRA et al., 2010; MATOS et al., 2006; O'DOWD, 1994). Em estudos laboratoriais, essas estruturas influenciaram positivamente nas populações de ácaros predadores (FERREIRA et al., 2008, 2011; MATOS et al., 2004, 2006). Contudo, em trabalhos de campo, as populações de predadores não aumentaram quando havia domácias abertas nas folhas de café (FERREIRA et al., 2010).

## **Técnicas de criação de ácaros predadores**

Visando o controle biológico aplicado, onde é feita a liberação de um grande número de indivíduos do agente de controle nas plantas atacadas, é importante se estabelecer um processo de produção massal de ácaros predadores. A produção massal comercial se diferencia da produção realizada em laboratório para fins de pesquisa, principalmente devido ao tamanho. Conseqüentemente, uma produção em larga escala demanda técnicas e estratégias diferenciadas. Muitos cuidados devem ser tomados com relação a higiene e logística, principalmente para se evitar contaminações, que podem comprometer o processo produtivo e a qualidade do produto. Nesta seção, serão expostos separadamente os métodos de criação e multiplicação de ácaros fitófagos e predadores, este último com ênfase na família Phytoseiidae. Por se tratar de ácaros carnívoros, a criação massal de ácaros fitosseídeos demanda paralelamente a criação de outros ácaros que sirvam de alimento a esses.

### **Criação massal de ácaros fitófagos**

As primeiras criações de ácaros fitófagos em laboratório foram estabelecidas sobre folhas destacadas de plantas e acondicionadas sobre espuma ou algodão umedecido (OVERMEER, 1985). Em alguns casos e para início da criação, também é necessária a manutenção das plantas hospedeiras, preferencialmente fáceis de cultivo e manipulação. Essas podem ser cultivadas e então suas folhas são destacadas para confecção das arenas de criação. Deve-se observar a aparência das folhas usadas nessas arenas, optando-se preferencialmente por aquelas que apresentam semelhança entre elas, diminuindo assim alguma influência nutricional da folha sobre os ácaros (MONTEIRO, 2002). Uma forma de evitar tal influência

nutricional da folha destacada é a manutenção das criações massais diretamente sobre as plantas hospedeiras.

Ácaros da família Tetranychidae são facilmente multiplicados sobre plantas hospedeiras. Dentre as espécies de plantas hospedeiras mais utilizadas está o feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), amplamente utilizado para a manutenção de criações massais de diversas espécies de ácaros fitófagos do gênero *Tetranychus*. Contudo, algumas outras espécies desse gênero são mantidas em plantas de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Ácaros da espécie *B. phoenicis* são pragas em diversas culturas, mas especialmente em citros e cafeeiro. Para a manutenção de uma criação massal dessa espécie são utilizados frutos de laranja das variedades Pêra Rio ou Valência. Os frutos são lavados em água corrente, secados e mergulhados em parafina derretida, deixando-se uma área de aproximadamente 10 cm<sup>2</sup> para a colonização dos ácaros. Esta área é circundada com uma barreira com cola adesiva para evitar a fuga dos ácaros. Antes da liberação dos ácaros nessa arena, uma mistura de gesso, areia, farinha de trigo e água é pincelada em alguns pontos da área para simulação dos sintomas da verrugose, que favorecem o desenvolvimento de ácaros dessa espécie (CHIAVEGATO, 1986; NAKANO et al., 1987). Ainda, para a manutenção dessa espécie, indivíduos podem ser confinados e multiplicados sobre folhas de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* L.) destacadas e acondicionadas sobre esponjas embebidas em água (ALVES et al., 2005a).

### **Criação massal de ácaros predadores**

As criações massais de ácaros predadores são mais difíceis de serem mantidas do que de ácaros fitófagos. Isso porque ácaros predadores apresentam diferentes hábitos alimentares, onde alguns sobrevivem exclusivamente com determinado tipo de presas,

enquanto outros sobrevivem apenas com pólen ou combinação de pólen e presa.

No caso de ácaros predadores que se alimentam exclusivamente com presas, também é imprescindível a manutenção de uma criação massal de ácaros fitófagos como descrito na seção anterior. Após a infestação artificial de plantas com os ácaros fitófagos, nessas é também liberada uma pequena população de ácaros predadores. Periodicamente, novas folhas ou folíolos previamente infestados com ácaros fitófagos são introduzidos sobre essas plantas para manutenção da população de presas. Os vasos com as plantas podem ser dispostos sobre uma bandeja plástica. Em outra situação, podem ser utilizados substratos inertes como placas de plástico, geralmente de cor escura, e que são acondicionadas sobre espumas embebidas em água e depositadas em uma bandeja plástica também com água. As bordas das arenas são recobertas com papel de seda umedecido, com o objetivo de fornecer água para os ácaros e evitar a fuga destes (MCMURTRY; SCRIVEN, 1975). Nessas arenas, são confinados os ácaros predadores e folhas ou folíolos de plantas hospedeiras infestadas com ácaros-presas que são oferecidas como fonte alimentar aos predadores. Ainda sobre essas arenas são depositados fibras de algodão ou fios de lã sob lamínulas de microscopia com o objetivo de estimular a oviposição através de locais para depósito dos ovos.

Como mencionado anteriormente, existem ácaros que não são exclusivamente carnívoros, ou seja, se alimentam também de pólen de flores. Assim, podem ser oferecidos pólenes de espécies vegetais em complementação ou substituição às presas. Dentre os pólenes mais comuns e utilizados para tal estão os pólenes de mamoneira (REIS; ALVES, 1997; REIS et al., 2007; RIJN; TANIGOSHI, 1999a, 1999b; YUE; TSAI, 1996), de taboa (*Typha* sp) (NOMIKOU et al., 2002, 2003, 2010), de milho (*Zea mays* L.) (NGUYEN; SHIH, 2010) e de fava (*Vicia faba* L.) (NOMIKOU et al., 2002, 2003, 2010).

## Estudos de casos e Principais programas de Controle Biológico de ácaros no Brasil

### Controle biológico do ácaro-rajado *T. urticae* em morangueiro

Os ácaros são considerados as principais pragas da cultura do morangueiro. Dentre eles destaca-se o ácaro-rajado *T. urticae* como praga-chave da cultura (FADINI et al., 2009; MORAES; FLECHTMANN, 2008). Esta espécie ataca as folhas desenvolvidas do morangueiro, principalmente durante a época de produção e em algumas cultivares de morangueiros a presença do ácaro-rajado em altas populações pode reduzir a produção de frutos em até 80% quando não é controlada ou quando o controle é realizado de forma incorreta (CHIAVEGATO; MISCHAN, 1981).

Em geral, indivíduos da espécie *T. urticae* caracterizam-se por apresentarem coloração esverdeada e duas manchas escuras no dorso. A duração do ciclo de seu desenvolvimento varia de acordo com as condições ambientais podendo durar de cinco a 50 dias, sendo de aproximadamente 6,2 dias a 29,4°C. Cada fêmea pode chegar a depositar 140 ovos durante seu ciclo de vida, porém a média geral é de 40 ovos por fêmea (FLECHTMANN, 1979). Os ovos de *T. urticae* são esféricos e amarelados, e sua postura é feita entre fios de teia tecidos em grande quantidade pelas fêmeas da espécie. Após o período de incubação de 4 a 5 dias, as larvas eclodem apresentando tamanho igual aos ovos. Os machos do ácaro-rajado diferenciam-se das fêmeas devido ao seu menor tamanho; fêmeas adultas medem cerca de 0,5 mm de comprimento, enquanto os machos medem aproximadamente 0,25 mm. Além disso, os machos apresentam a parte final do corpo afilada (MORAES; FLECHTMANN, 2008).

O controle químico ainda é o principal método de manejo do ácaro-rajado, entretanto, alguns produtores têm utilizado o método de

forma errônea fazendo o uso de altas concentrações de produtos e excesso de aplicações. A utilização do método de forma errada tem levado à seleção de indivíduos resistentes ocasionando frequentes falhas no controle da praga quando se faz o uso dos acaricidas (CHIAVEGATO et al., 1983; NAUEN et al., 2001; SATO et al., 2000, 2009; SOUZA FILHO et al., 1994). Além da redução da eficiência de controle do ácaro pelo método químico, o mercado tem apresentado maior demanda por alimentos com menor carga de agrotóxicos, valorizando a produção de alimentos orgânicos. Todo esse processo tem incentivado pesquisas com o objetivo de desenvolver técnicas não químicas de controle de pragas (FADINI et al., 2004).

Em algumas regiões da Europa e da América do Norte, o controle biológico de ácaros-praga do morangueiro tem sido realizado utilizando ácaros predadores e tal prática tem sido eficiente contra as espécies alvo (CROFT et al., 1998; CROSS et al., 2001; EASTERBROOK et al., 2001). No Brasil, o estudo de espécies de ácaros predadores do ácaro-rajado na cultura do morangueiro tem sido embasado em duas espécies promissoras, *Neoseiulus californicus* (McGregor) e *P. macropilis*.

Bueno e Poletti (2009) realizaram trabalho no município de Estiva (MG) a fim de avaliar a eficiência de *N. californicus* no controle de populações de ácaro-rajado. O experimento foi conduzido em um plantio de morangueiro onde foram separadas duas áreas de 50 m<sup>2</sup> cada. Em uma das áreas foi feito o controle convencional da praga com uso de acaricidas registrados para a cultura do morangueiro. Na outra área o controle da praga foi realizado por meio da liberação de ácaros predadores quando foram detectadas as primeiras reboleiras (sintomas de ataque do ácaro-rajado). A flutuação populacional da praga e dos predadores foi monitorada quinzenalmente durante 100 dias, contando-se o número de ácaros-rajados em 25 folíolos representativos de cada área. Foram necessárias duas liberações de predadores, a primeira ocorreu quando a densidade

da praga atingiu duas formas móveis por folíolo e a outra liberação foi feita quando a população da praga era de seis formas móveis por folíolo. Em cada liberação foram introduzidos cinco indivíduos de *N. californicus*/m<sup>2</sup>. Como observado pelos autores inicialmente, mesmo após a liberação de predadores, houve aumento da população de praga. Isso pode ser explicado devido ao tempo necessário para estabelecimento populacional dos predadores. No entanto, na área onde foi utilizado acaricida não foi observado o controle do ácaro, sendo a população da praga nesta área 40 vezes superior à observada na área onde foram liberados os predadores. Os autores concluíram que a introdução do ácaro predador *N. californicus*, no início da infestação do ácaro-rajado, é eficiente, podendo manter a densidade populacional da praga abaixo do nível de dano econômico durante longo período.

Oliveira et al. (2009) avaliaram a capacidade do predador *P. macropilis* em controlar populações do ácaro *T. urticae* sob condições de casa de vegetação, além da capacidade do predador em localizar plantas de morangueiro infestadas pela presa. Morangueiros apresentando 3 a 4 folhas foram separados em dois grupos, ambos infestados com 10 fêmeas adultas da presa por folha. Após sete dias foi quantificado o número de pragas por planta. Em um grupo de plantas foi liberada uma fêmea acasalada do predador e a população da praga e do predador foi quantificada semanalmente por mais quatro semanas. Os autores chegaram à conclusão de que o predador *P. macropilis* tem potencial de suprimir a população da praga, uma vez que após 28 dias da liberação dos mesmos a quantidade de ácaros-praga foi extinta, enquanto no grupo em que não houve liberação de predadores foram registradas 31 ácaros-praga por folha. A população máxima de predador foi encontrada no 27º dia após a liberação sendo contabilizados 16 indivíduos de *P. macropilis* por planta. A fim de avaliar a capacidade do predador em localizar as plantas de morangueiro infestadas com a presa a

longas distâncias, foi desenvolvido um experimento utilizando-se metodologia diferente. Gaiolas (1,74 x 1,74 x 1,70m) foram dispostas em casa-de-vegetação e estas tiveram suas bases preenchidas com solo a uma altura suficiente para enterrar vasos contendo plantas de morangueiro. Seis vasos de morangueiro foram enterrados na gaiola, de forma a obter uma circunferência de 100 cm, sendo três plantas infestadas com 100 ácaros-praga e três plantas não infestadas, dispostas alternadamente. No centro do círculo foram liberadas no solo fêmeas adultas do predador *P. macropilis* e observou-se a escolha destes por plantas infestadas ou não infestadas, quantificando-se o número de predadores capturados nas plantas. Segundo os autores, foi observada preferência dos predadores *P. macropilis* por plantas infestadas por presas *T. urticae* em relação às plantas não infestadas, demonstrando assim a capacidade do predador em localizar as plantas infestadas no campo.

Segundo Fadini et al. (2009) e Poletti (2010), a estratégia de controle biológico de ácaros deve ser difundida e estimulada por técnicos aos produtores, pois ao fazer uso de controle biológico de pragas em suas lavouras o produtor agrega valor ao seu produto final e com esta técnica é possível o manejo do ácaro-rajado em áreas com populações resistentes a acaricidas.

### **Controle biológico do ácaro-vermelho da macieira no sul do Brasil**

No sul do Brasil, duas das principais pragas que limitam a produção de maçãs (*Malus domestica* Borkh) são o ácaro-vermelho da macieira *Panonychus ulmi* (Koch) e o ácaro-rajado *T. urticae*, ambos da família Tetranychidae (MONTEIRO, 1994). Para o controle desses ácaros utilizava-se, principalmente, o manejo químico por meio de agrotóxicos (acaricidas), chegando a serem feitas de três a quatro aplicações por ciclo vegetativo da macieira (MONTEIRO, 1994).

Entretanto, há aproximadamente 20 anos, foi dado início ao que é considerado hoje um dos principais programas de controle biológico de ácaros no Brasil. Em 1992, o ácaro predador *N. californicus* (Acarí: Phytoseiidae) foi introduzido em pomares de macieira na região de Vacaria (Rio Grande do Sul), como alternativa para o controle dos ácaros fitófagos *P. ulmi* e *T. urticae* (MONTEIRO, 1994). Desde a sua introdução, muitos estudos têm sido conduzidos para entender melhor as interações entre os ácaros predadores e o complexo formado pelas macieiras, os fitófagos e demais plantas do agroecossistema, visando aperfeiçoar o controle biológico nos pomares.

Em um estudo comportamental foi observado que o ácaro predador é capaz de usar odores para localizar folhas de macieiras atacadas tanto por *P. ulmi* como por *T. urticae* (COLLIER et al., 2000). Há muito já se sabe que plantas quando são atacadas por herbívoros podem produzir compostos químicos voláteis (odores) que são liberados no ambiente (DICKE et al., 1990; DICKE; SABELIS, 1988). Esses odores podem servir de pistas para que os inimigos naturais dos herbívoros localizem as plantas atacadas. Muitos são os inimigos naturais capazes de utilizar esses odores e os ácaros predadores se destacam dentre eles (SABELIS; BAAN, 1983). Ácaros predadores são animais cegos e por isso utilizam sinais químicos para se orientarem no ambiente (HELLE; SABELIS, 1985). Dessa forma, a atratividade dos ácaros predadores *N. californicus* por folhas atacadas pelos ácaros fitófagos mostra uma boa adaptação deles ao novo agroecossistema. Assim, os ácaros predadores têm a capacidade de diferenciar entre folhas atacadas e folhas saudáveis em uma planta. Dessa forma, os predadores irão se concentrar em partes atacadas da macieira, promovendo um controle mais eficiente. Além da atratividade por folhas atacadas foi observado, também, que o ácaro predador *N. californicus* é capaz de diferenciar entre os odores produzidos por plantas inteiras atacadas e não atacadas tanto por *P. ulmi* quando por *T. urticae* (COLLIER et al., 2001). Es-

ses resultados evidenciam que em uma escala de agroecossistema os ácaros predadores são capazes de usar os odores para localizar e se direcionar para as plantas que estão sendo atacadas por ácaros fitófagos e podem evitar as plantas não atacadas. Esse tipo de comportamento pode facilitar o manejo dos ácaros fitófagos, pois uma vez feitas as liberações dos ácaros predadores estes podem se distribuir no pomar, concentrando-se em plantas infestadas por fitófagos. Isso colabora com o manejo, reduzindo a necessidade de novas liberações e custos com mão-de-obra.

Em agroecossistemas é importante salientar que os ácaros predadores não interagem somente com as macieiras atacadas, mas também existem outras plantas que podem, de certa forma, aumentar a complexidade das interações. No caso das plantações de maçã na região de Fraiburgo (Santa Catarina), foram constatadas três espécies de plantas espontâneas onde também se observou a infestação pelo ácaro-rajado: *Sida rhombifolia* L. (Malvaceae); *Plantago tomentosa* Lamarck (Plantaginaceae); *Taraxacum officinale* Weber (Compositae) (COLLIER et al., 2001). Essas plantas espontâneas, por hospedarem o ácaro-rajado, podem também servir como abrigo alternativo para o ácaro predador durante as épocas em que as macieiras estiverem passando pelo período de dormência, quando ocorre a queda das folhas. Além de abrigar presas, as plantas espontâneas podem ainda prover pólen que é um alimento alternativo muito importante para muitas espécies de ácaros predadores como é o caso de *N. californicus* (CASTAGNOLI et al., 1999). Em estudos do comportamento do ácaro predador frente a odores emitidos por essas plantas espontâneas, Collier et al. (2001) observaram que *N. californicus* identifica e prefere odores de *S. rhombifolia* e *P. tomentosa* infestadas pelo ácaro-rajado em relação às plantas da mesma espécie não infestadas por fitófagos. Também foi observado que o ácaro predador mostrou uma preferência significativa pelos odores das flores das três espécies de plantas espontâneas testadas em

relação à planta não infestada e sem flor. Esses resultados indicam que no momento em que houver escassez de alimento (ácaros fitófagos) nas macieiras, os ácaros predadores podem buscar alimento nas plantas espontâneas que se encontram no pomar. Essa capacidade de obter alimento alternativo é muito importante para o estabelecimento da espécie predadora no local onde se deseja realizar o controle.

Essa interação do ácaro predador com as plantas invasoras e seus possíveis efeitos positivos sobre o manejo dos ácaros fitófagos em pomares de macieiras foram confirmados em um trabalho feito em campo. Foram observadas altas populações de *N. californicus* em áreas de produção de maçã onde foi conduzida uma forma de manejo das plantas espontâneas que permitisse o desenvolvimento dessas nas entrelinhas do pomar (MONTEIRO et al., 2002). Nas parcelas onde as plantas espontâneas foram manejadas com herbicidas, a consequente morte destas plantas levou a uma maior população de ácaros fitófagos nas macieiras (MONTEIRO et al., 2002), comprometendo a produtividade de frutos.

Outra característica interessante de *N. californicus* é a sua alta tolerância aos agrotóxicos, normalmente utilizados durante o ciclo da macieira. Quando testado em laboratório, o efeito de fungicidas que geralmente são aplicados em pomares de maçã sobre a sobrevivência de adultos de jovens de *N. californicus*, Meyer et al. (2009), teve uma alta tolerância dos ácaros predadores a esses produtos. Dentro da classe dos acaricidas, somente o agrotóxico Piridabem foi classificado como moderadamente nocivo, de acordo com a classificação internacional para esse tipo de bioensaio (BAKKER et al., 1992). Os demais produtos apresentaram baixas classes de toxicidade, sendo classificados como inócuos ou não nocivos e levemente nocivos (MEYER et al., 2009). Esse tipo de informação é importante para a determinação do manejo (quando necessário) pontual de agrotóxicos em pomares de macieira de forma a prejudi-

car, o menos possível, os ácaros predadores, não comprometendo muito o controle biológico das pragas.

Apesar dos ácaros fitófagos serem as principais pragas da macieira outros artrópodes ocorrem nessa cultura e também necessitam de tratamento fitossanitário. Outra importante praga na produção de maçãs na região sul do Brasil é a mosca-das-frutas *Anastrepha fraterculus* (Wied) (Diptera: Tephritidae). Visando conhecer os efeitos nocivos dos agrotóxicos utilizados no controle da mosca-das-frutas sobre o ácaro predador *N. californicus*, Monteiro (2001) conduziu testes de seletividade em laboratório sobre esse predador. Foi observado que os agrotóxicos azinfós metil, deltametrina e fentiom foram considerados altamente nocivos (classe 4 IOBC/WPRS) a *N. californicus*, promovendo a mortalidade de 100% dos predadores testados. Demais inseticidas testados, tais como dimethoate, fenitrothion, paration, phosmet, triclofon e malation, foram classificados como não nocivos e/ou levemente nocivos (MONTEIRO, 2001). Esses resultados ajudam a se determinar quais produtos serão aplicados para o controle de mosca-das-frutas, quando simultaneamente se deseja realizar o controle biológico dos ácaros fitófagos por meio da liberação do ácaro predador *N. californicus*.

Apesar da aparente alta tolerância de *N. californicus* a determinados agrotóxicos, não se recomenda que os produtos sejam aplicados de forma indiscriminada. A classificação de toxicidade proposta pela IOBC/WPRS leva em consideração apenas a mortalidade (efeito letal) e não considera os efeitos subletais. Muitos agrotóxicos apresentam efeitos subletais sobre os organismos não-alvo, o que pode levar a uma queda drástica na eficiência do controle biológico, como por exemplo, a redução na capacidade de localização de presas no campo (TEODORO et al., 2005, 2009).

Além de todos os benefícios ambientais e ecológicos associados à utilização de ácaros predadores para o controle dos ácaros fi-

tófagos, existem também os benefícios econômicos. Uma análise econômica entre o controle biológico dos ácaros fitófagos e o manejo convencional, mostrou claramente os benefícios financeiros na utilização de ácaros predadores e as demais estratégias relacionadas ao manejo biológico. Para as condições do estudo, os custos fitossanitários do controle biológico utilizando *N. californicus* foram 15,8% menores em relação aos custos despendidos em pomares onde foi realizada apenas a utilização de agrotóxicos no manejo dos ácaros-praga (MONTEIRO et al., 2006). Apesar dos custos com mão-de-obra e com implementos agrícolas terem sido semelhantes nos pomares de manejo convencional e de manejo biológico, a baixíssima utilização de acaricidas trouxe a vantagem econômica para os pomares com controle biológico (MONTEIRO et al., 2006).

O exemplo do controle biológico de ácaros fitófagos em pomares de maçã do sul do Brasil mostra como é possível implementar no campo conhecimentos adquiridos em laboratório de modo a tornar o manejo das pragas mais eficiente. Os resultados observados em experimentos comportamentais, fisiológicos e ecológicos foram extrapolados para os pomares na forma de estratégias de manejo da lavoura aperfeiçoando o desempenho do ácaro predador *N. californicus*. Desde 2002, as estratégias aqui apresentadas se encontram em uso, com sucesso, na região de Fraiburgo (CONTROLE..., 2012) e fazem parte do pacote tecnológico repassado aos produtores de maçã da região.

## **Perspectivas futuras**

### **Ácaro-branco em pimenta malagueta**

A pimenta malagueta vem se tornando uma cultura de rápido crescimento, especialmente na Zona da Mata Mineira, tendo grande

atrativo devido a seu alto valor no mercado tanto para consumo *in natura* quanto para fins industriais. Dentro do complexo de pragas que afetam a cultura ganha destaque o ácaro-branco, *P. latus*, que é considerado praga-chave (VENZON et al., 2006, 2011). Embora não existam acaricidas registrados para a cultura no Brasil, o principal método de controle do ácaro-branco pelos produtores é o químico, muitas vezes baseado em aplicações de calendário, apesar do pouco sucesso no controle (PINTO et al., 1999; VENZON et al., 2006).

O ácaro predador *Amblyseius herbicolus* é frequentemente encontrado associado ao ácaro-branco em plantios de pimenta malagueta na Zona da Mata Mineira (MATOS, 2006). A partir desta associação, trabalhos conduzidos em laboratório visaram à avaliação do potencial de controle deste fitoseídeo sobre populações do ácaro-branco. Rodríguez-Cruz (2010) registrou que *A. herbicolus* tem a habilidade de se alimentar em todos os estádios da praga (ovos, larvas, pupas e adultos). Sobressai-se o alto consumo diário observado em larvas, pupas e ovos do ácaro-branco (76, 63 e 62 indivíduos, respectivamente). O predador teve também a capacidade de ovipositar ao se alimentar dos diferentes estádios do ácaro-branco (RODRÍGUEZ-CRUZ, 2010). Bioensaios em casa de vegetação avaliaram o potencial de controle de *A. herbicolus* em populações do ácaro-branco em diferentes relações predador: presa (DUARTE et al., 2012). Os autores registraram um controle efetivo das populações do ácaro-branco, nas relações predador: presa 1:10 e 1:20 sete dias depois da infestação e liberação do predador. As fêmeas do predador ovipositaram e geraram novos indivíduos. No mesmo trabalho, os autores registraram que a capacidade de controle do predador acontece em duas diferentes temperaturas (25 e 30°C), o que pode mostrar a capacidade do predador para se adaptar a diferentes regiões produtoras de pimenta malagueta.

Apesar do potencial de predação e uso apresentado por *A. herbi-*

*colus*, continua a procura por novos inimigos naturais desta importante praga. Coletas realizadas no município de Piranga (MG), em plantas de pimenta malagueta infestadas com ácaro-branco, levaram a descobertas de um novo fitoseídeo associado nesta região ao ácaro-branco, a espécie *Typhlodromus transvaalensis* (Nesbitt) (Acari: Phytoseiidae) (RODRÍGUEZ-CRUZ et al., 2011).

Além dos trabalhos de avaliação em laboratório da capacidade predatória de *T. transvaalensis*, são necessárias avaliações em campo visando conhecer o verdadeiro potencial de controle de *A. herbicolus* e *T. transvaalensis* quando liberados em condições reais da cultura.

### Ácaro-branco em pinhão manso

O plantio de pinhão manso vem aumentando no Brasil devido ao alto conteúdo de óleo nas suas sementes, característica desejável para a produção de biodiesel (FAIRLESS, 2007; SARMENTO et al., 2011). Atualmente, seu plantio é impulsionado como uma alternativa para aumento da renda de pequenos produtores (SARMENTO et al., 2011). Dentro dos problemas fitossanitários principais da cultura no Brasil está o ataque pelos ácaros fitófagos *P. latus* e *Tetranychus bastosi* Tuttle, Baker & Sales (LOPES, 2009; SARMENTO et al., 2011). O ácaro-branco danifica o pinhão manso ao se alimentar das folhas apicais tanto em mudas quanto em árvores já estabelecidas no campo. *Tetranychus bastosi* ataca preferencialmente as folhas maduras do pinhão manso, além de cobri-las com teia. Vários ácaros predadores têm sido registrados em associação com estas pragas, todos pertencentes à família Phytoseiidae, sendo eles *Iphiseiodes zuluagai*, *Typhlodromalus peregrinus* Muma, *Typhlodromalus aripo* De Leon, *Typhlodromalus manihoti* Moraes, *A. neochiapensis*, *Euseius ho* De Leon e *E. concordis* (LOPES, 2009). Contudo, é pouco o conhecimento da capacidade de preda-

ção destas espécies. As espécies *I. zuluagai* e *E. concordis* foram avaliadas em laboratório (SARMENTO et al., 2011). Os autores registraram a capacidade dos dois predadores para se alimentar de *P. latus*. Embora *I. zuluagai* consuma mais indivíduos, a taxa de oviposição não diferiu entre os dois predadores.

Os autores também registraram a capacidade de *I. zuluagai* em localizar folhas infestadas com *P. latus*. O predador *E. concordis* não teve a capacidade de localizar as folhas infestadas com a praga. Uma alternativa viável e interessante para o controle de *P. latus* em pinhão manso é o uso do fitoseídeo *Amblyseius herbicolus* (Chant), podendo ter o mesmo desempenho registrado em pimenta malagueta.

### ***Aceria guerreronis* em coqueiro**

O coqueiro é cultivado principalmente nos estados da Bahia, Pará, Ceará, Espírito Santo e Pernambuco (AGRIANUAL, 2009). *Aceria guerreronis* é considerado uma das principais pragas do coqueiro no Brasil. Localiza-se abaixo das brácteas, causando necrose do tecido atacado e o aborto dos frutos. As perdas que se devem ao seu ataque podem atingir até 60% (MOORE, 2000).

O seu controle é muito complexo como consequência do seu pequeno tamanho e pela proteção obtida ao estabelecer suas colônias nas brácteas (RAMARAJU et al., 2002). Os métodos químicos de controle são onerosos, e o controle biológico surge como uma boa alternativa. Vários ácaros têm sido registrados como potenciais predadores da espécie. As principais espécies encontradas são os fitoseídeos *Neoseiulus baraki* Athias-Henriote, *Neoseiulus paspalivorus* Deleon (MORAES; ZACARIAS, 2002); quanto à família Ascidae foram registrados *P. bickleyi* (DOMINGOS et al., 2009) e *Proctolaelaps bulbosus* (MORAES et al., 2008) em frutos abortados

(LAWSON-BALAGBO et al., 2008). Dentre estes predadores, sobressaem *N. baraki* e *P. bickleyi*; estes têm a capacidade de serem atraídos pelas partes infestadas com *A. guerreronis* (MELO et al., 2011).

A procura por novos inimigos naturais de *A. guerreronis* no Brasil prossegue com ênfase nas características morfológicas destes inimigos naturais que sejam capazes de acessar o local de ataque da presa. Como consequência do pequeno tamanho de *A. guerreronis*, este ácaro consegue ter acesso ao perianto dos frutos do coqueiro com idade de apenas um mês após a fecundação destes frutos. Entretanto, os predadores somente conseguem acessar o perianto aproximadamente dois meses após sua fecundação (GONDIM JUNIOR., 2010). Isto dá uma boa vantagem para o ácaro-praga se estabelecer levando-se em consideração o hábito comportamental dos predadores hoje estudados.

### **Considerações finais**

Durante muitos anos o controle de ácaros fitófagos no Brasil e no mundo foi baseado no controle químico, utilizando-se produtos altamente tóxicos ao meio ambiente e pouco ou nada seletivos aos organismos benéficos. Atualmente é reconhecido que o uso de inimigos naturais é um meio muito eficaz para o controle dessas pragas. Diversos estudos foram realizados e outros estão sendo conduzidos com o objetivo de aumentar o número de organismos passíveis de uso em programas de controle biológico, além de melhorar sua eficiência com o desenvolvimento de estratégias conservativas de manipulação dos ambientes. Paralelamente ao crescente interesse e uso desse método de controle de pragas, a demanda por produtos agrícolas isentos ou com baixas concentrações de produtos químicos também vem crescendo. Com isso, o produtor rural pode agregar valor ao seu produto e atingir novos mercados.

Em resumo, existem benefícios ecológicos e econômicos no uso do controle biológico de ácaros. E para que esses benefícios sejam atingidos, universidades e centros de pesquisas devem priorizar estudos de biologia, ecologia e manejo cultural das lavouras de modo a favorecer o uso desses organismos benéficos presentes no agroecossistema.

### Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (Capes) e à Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (Fapemig) pelos projetos de pesquisa financiados e pelas bolsas concedidas.

### Referências

- AGRIANUAL: Anuário da agricultura Brasileira. São Paulo, FNP, 2009. p. 318-321.
- ALFORD, D. V. **A colour atlas of pests of ornamental trees, shrubs and flowers**. London: Wolfe, 1994. 448 p.
- ALVES, S. B. (Ed.). Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. Piracicaba: Fealq, 1998. p. 289-382.
- ALVES, E.; CASARIN, N.; OMOTO, C. Dispersal mechanisms of *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae) in citrus groves. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, n. 1, p. 89-96, 2005a.
- ALVES, S. B.; TAMAI, M. A.; ROSSI, L. S.; CASTIGLIONI, E. *Beauveria bassiana* pathogenicity to the citrus rust mite *Phyllocoptruta oleivora*. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 37, n. 1, p. 117-122, 2005b.
- BAKER, H. G. Non-sugar chemical constituents of nectar. **Apidologie**, Heidelberg, v. 8, n. 4, p. 349-356, 1977.

- BAKER, H. G.; BAKER, I. Floral nectar sugar constituents in relation to pollinator type. In: JONES, C. E.; LITTLE, R. J. (Ed.). **Handbook of experimental pollination biology**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1983. p. 117-141.
- BAKER, H. G.; BAKER, I. Some anthecological aspects of the evolution of nectar-producing flowers, particularly amino acid production in nectar. In: HEYWOOD, V. H. (Ed.). **Taxonomy and ecology**. London: Academic Press, 1973. p. 243-264.
- BAKKER, F.; GROVE, A.; BLÜMEL, S.; CALIS, J.; OOMEN, P. Side-effect tests for phytoseiids and their rearing methods. **IOBC/WPRS Bulletin**, [S.l.], v. 15, n. 3, p. 61-75, 1992.
- BAKKER, F.; KLEIN, M.; MESA, N.; BRAUN, A. Saturation deficit tolerance spectra of phytophagous mites and their phytoseiid predators on cassava. **Experimental e Applied Acarology**, Amsterdam, v. 17, n. 1, p. 97-113, 1993.
- BEATTIE, A. J. **The evolutionary ecology of ant-plant mutualisms**. Cambridge: Cambridge University, 1985. 196 p.
- BERNDT, O.; POEHLING, H. M.; MEYHÖFER, R. Predation capacity of two predatory laelapid mites on soil-dwelling thrips stages. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Oxford, v. 112, n. 2, p. 107-115, 2004.
- BOLLAND, H. R.; GUTIERREZ, J.; FLECHTMANN, C. H. W. **World catalogue of the spider mite family (Acari: Tetranychidae)**. Leiden: Brill, 1998. 392 p.
- BRITTO, E. P. J.; GONDIM, M. G. C.; TORRES, J. B.; FIABOE, K. K. M.; MORAES, G. J.; KNAPP, M. Predation and reproductive output of the ladybird beetle *Stethorus tridens* preying on tomato red spider mite *Tetranychus evansi*. **Biocontrol**, Dordrecht, v. 54, n. 3, p. 363-368, 2009.
- BUENO, V. H. P.; POLETTI, M. Progress with biological control and IPM strategies in protected cultivation in Brazil. **IOBC/WPRS Bulletin**, [S.l.], v. 49, p. 31-36. 2009.
- BUGEME, D. M.; KNAPP, M.; BOGA, H. I.; WANJOYA, A. K.; MANIANIA, N. K. Influence of temperature on virulence of fungal isolates of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* to the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. **Mycopathologia**, The Hague, v. 167, n. 4, p. 221-227, 2009.
- CASTAGNOLI, M.; SIMONI, S.; BILIOTTI, N. Mass-rearing of *Amblyseius californicus* (Acari: Phytoseiidae) on two alternative food sources. In: BRUIN, J.; GEEST, L. P. S. van der; SABELIS, M. W. (Ed.). **Ecology and evolution of the acari**. Dordrecht: Kluwer, 1999. p. 425-432. (Series Entomologica, 55).

CASTILHO, R. C.; MORAES, G. J.; SILVA, E. S.; FREIRE, R. A. P.; EIRA, F. C. da. 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**, London, v. 55, n. 3, p. 181-185, 2009.

CHAGAS, C. M. Viroses, ou doenças semelhantes transmitidas por ácaros tenuipalpeados: mancha anular do cafeeiro e leprose dos citros. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 13, n. 2, p. 92, 1998.

CHANG, C. P.; HUANG, S. C. Evaluation of the effectiveness of releasing green lacewing, *Mallada basalis* (Walker) for the control of tetranychid mites on strawberry. **Plant Protection Bulletin**, Taipei, v. 37, n. 1, p. 41-58, 1995.

CHIAVEGATO, L. G. Biologia do acaro *Brevipalpus phoenicis* em citros. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, Brasília, DF, v. 21, n. 8, p. 813-816, 1986.

CHIAVEGATO, L. G.; MISCHAN, M. M. Efeito do ácaro *Tetranychus* (T.) *urticae* (Koch, 1836), 1963 (Acari: Tetranychidae) na produção no morangueiro (*Fragaria* spp.) cv. 'Campinas'. **Científica**, Jaboticabal, v. 9, n. 2, p. 257-266, 1981.

CHIAVEGATO, L. G.; MISCHAN, M. M.; COTAS, M. P. Resistência do ácaro-rastado *Tetranychus* (T.) *urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae) proveniente de diferentes regiões algodoeiras aos acaricidas. **Científica**, Jaboticabal, v. 11, n. 1, p. 57-62, 1983.

COLLIER, K. F. S.; ALBUQUERQUE, G. S.; EIRAS, A. E.; BLACKMER, J. L.; ARAUJO, M. C.; MONTEIRO, L. B. Estímulos olfativos envolvidos na localização de presas pelo ácaro predador *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) em macieiras e plantas hospedeiras alternativas. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 4, p. 631-639, 2001.

COLLIER, K. F. S.; EIRAS, A. E.; ALBUQUERQUE, G. S.; BLACKMER, J. L.; ARAÚJO, M. C.; MONTEIRO, L. B. Localização de presas à curta distância por *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae): o papel dos aleloquímicos dos ácaros fitófagos *Panonychus ulmi* (Koch) e *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) e da planta hospedeira, *Malus domestica* (Borkham). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 29, n. 4, p. 705-713, 2000.

CONTROLE do ácaro vermelho europeu. Disponível em: <[www.agricolafraiburgo.com.br](http://www.agricolafraiburgo.com.br)>. Acesso em: 8 abr. 2012.

CROFT, B. A.; PRATT, P. D.; KOSKELA, G.; KAUFMAN, D. Predation, reproduction, and impact of Phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae) on Cyclamen mite (Acari: Tarsonemidae) on strawberry. **Journal of Economic Entomology**, Oxford, v. 91, n. 6, p. 1307-1314, 1998.

CROSS, J. V.; EASTERBROOK, M. A.; CROOK, A. M.; CROOK, D.; FITZGERALD, J. D.; INNOCENZI, P. J.; JAY, C. N.; SOLOMON, M. G. Natural enemies and biocontrol of pests of strawberry in northern and central Europe. **Biocontrol Science and Technology**, New York, v. 11, n. 2, p. 165-216, 2001.

DELALIBERA JUNIOR, I.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; MORAES G. J.; ALENCA, J. A.; FARIAS, A. W. Infection of *Mononychellus tanajoa* (Acari: Tetranychidae) by the fungus *Neozygites* sp. (Entomophthorales) in northeastern Brazil. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 75, n. 1, p. 145-147, 1992.

DICKE, M.; SABELIS, M. W. How plants obtain predatory mites as bodyguards. **Netherlands Journal of Zoology**, Leiden, v. 38, n. 2, p. 148-165, 1988.

DICKE, M.; SABELIS, M. W.; 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**, Palo Alto, v. 16, n. 11, p. 3091-3118, 1990.

DUAD, R. D.; FERES, R. J. F. Diversidade e flutuação populacional de ácaros (Acari) em *Mabea fistulifera* Mart. (Euphorbiaceae) de dois fragmentos de mata estacional semidecidual em São José do Rio Preto, SP. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, n. 2, p. 191-201, 2005.

DUARTE, M. V. A.; VENZON, M.; RODRÍGUEZ-CRUZ, F. A. Controle do ácaro-branco em pimenta-malagueta com o predador *Amblyseius herbicolus* em diferentes densidades populacionais. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA, 9., 2012, Belo Horizonte. **Resumos expandidos...** Belo Horizonte, EPAMIG, 2012. 5 p.

DURKEE, L. The floral and extra-floral nectaries of passiflora: 2. the extra-floral nectary. **American Journal of Botany**, Lancaster, v. 69, n. 9, p. 1420-1428, 1982.

EASTERBROOK, M. A.; GERALD, J. D. F.; SOLOMON, M. G. Biological control of strawberry tarsonemid mite *Phytonemus pallidus* and two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* on strawberry in the UK using species of *Neoseiulus* (*Amblyseius*) (Acari: Phytoseiidae). **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 25, n. 1, p. 25-36, 2001.

FADINI, M. A. M.; PALLINI, A.; VENZON, M. Controle de ácaros em sistema de produção integrada de morango. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 4, p. 1271-1277, 2004.

FADINI, M. A. M.; PALLINI, A.; VENZON, M.; OLIVEIRA, C. M. Uso de ácaros predadores para o controle biológico de ácaros-praga. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 30, n. 251, p. 7-13, 2009.

FAIN, Y.; KRANTZ, G. W. Notes on the genus *Asperoseius* Chant, 1957 (Acari, Phytoseiidae), with descriptions of two new species. **Journal of African Zoology**, [S.l.], v. 104, n. 3, p. 213-220, 1990.

FAIRLESS, D. Biofuel: the little shrub that could- maybe. **Nature**, London, v. 449, p. 652-655, 2007.

FAN, Y.; PETIT, F. L. Dispersal of broad mite, *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) (Acari: Tarsonemidae) on *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae). **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 22, n. 7, p. 411-415, 1998.

FARAJI, F.; JANSSEN, A.; SABELIS, M. W. Oviposition patterns in a predatory mite reduce the risk of egg predation caused by prey. **Ecological Entomology**, Oxford, v. 27, n. 6, p. 660-664, 2002.

FERLA, N. J.; MORAES, G. J. de. Ácaros (Arachnida, Acari) da seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) no Estado do Mato Grosso, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, São Paulo, v. 19, n. 3, p. 867-888, 2009.

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

FERNANDO, L. C. P.; MANOJ, P.; HAPUARACHCHI, D. C. L.; EDGINGTON S. Evaluation of four isolates of *Hirsutella thompsonii* against coconut mite (*Aceria guerreronis*) in Sri Lanka. **Crop Protection**, Guildford, v. 26, n. 7, p. 1062-1066, 2007.

FERRAGUT, F.; ESCUDERO, L. A. *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard (Acari, Tetranychidae), una nueva araña roja en los cultivos hortícolas españoles. **Boletín de Sanidad Vegetal y Plagas**, Madrid, v. 25, n. 2, p. 157-164, 1999.

FERREIRA, J. A. M.; CUNHA, D.; PALLINI, A.; SABELIS, M. W.; JANSSEN, A. Leaf domatia reduce intraguild predation among predatory mites. **Ecological Entomology**, Oxford, v. 36, n. 4, p. 435-441, 2011.

FERREIRA, J. A. M.; ESHUIS, B.; JANSSEN, A.; SABELIS, M. W. Domatia reduce larval cannibalism in predatory mites. **Ecological Entomology**, Oxford, v. 33, n. 3, p. 374-379, 2008.

FERREIRA, J. A. M.; PALLINI, A.; OLIVEIRA, C. L.; SABELIS, M. W.; JANSSEN, A. Leaf domatia do not affect population dynamics of the predatory mite *Iphiseiodes zuluagai*. **Basic and Applied Ecology**, Jena, v. 11, n. 2, p. 144-152, 2010.

FERREIRA, L. G. S. Pupunha (*Bactris gasipaes* H.B.K.). In: MANUAL técnico das culturas. Campinas, Cati, 1997. p. 317-331.

FLECHTMANN, C. H. W. **Ácaros de importância agrícola**. 3. ed. São Paulo: Nobel, 1979. 189 p.

FLECHTMANN, C. H. W. Dois ácaros novos para o eucalipto, com uma lista daqueles já assinalados para esta planta. **IPEF**, v. 23, n. 1, p. 43-46, 1983.

FLECHTMANN, C. H. W.; AMANTE, E. Ácaro purpúreo *Panonychus citri* (McGregor, 1916) praga dos citros. **O Biológico**, São Paulo, v. 40, n. 7, 195-200. 1974.

FREIRE, R. A. P.; MORAES, G. Mass production of the predatory mite *Stratiolaelaps scimitus* (Womersley) (Acari: Laelapidae). **Systematic and Applied Acarology**, London, v. 12, n. 2, p. 117-119, 2007.

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

FREITAS, S. O uso de crisopídeos no controle biológico de pragas. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 209-224.

GALVÃO, A.; GONDIM, M.; MORAES, G. Life history of *Proctolaelaps bulbosus* feeding on the coconut mite *Aceria guerreronis* and other possible food types occurring on coconut fruits. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 53, n. 3, p. 245-252, 2011.

GEEST, L. P. S. van der; ELLIOT, S. L.; BREEUWER, J. A. J.; BEERLING, E. A. M. Diseases of mites. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 24, n. 7, p. 497-560, 2000.

GERSON, U.; SMILEY, R. L.; OCHOA, R. Phytoseiidae. In: GERSON, U.; SMILEY, R. L.; OCHOA, R. **Mites (acari) for pest control**. Oxford: Blackwell Science, 2003. p.173-218.

GONDIM JUNIOR, M. G. C. Control of *Aceria guerreronis* Keifer (Acari: Eriophyidae) with predatory mites in Brazil: an update. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ACAROLOGIA, 3., 2010, Campinas. 2010. **Resumos...** Campinas: Instituto Biológico, 2010. p. 121.

GONDIM JUNIOR, M. G. C.; MORAES, G. J. de. Life cycle of *Retracrus jhonstoni* Keifer (Acari: Phytoptidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 197-201, 2003.

GROSTAL, P.; O'DOWD, D. Plants, mites and mutualism: leaf domatia and the abundance and reproduction of mites on *Viburnum tinus* (Caprifoliaceae). **Oecologia**, Berlin, v. 97, n. 3, p. 308-315, 1994.

HAJEK, A. E.; MCMANUS, M. L.; DELALIBERA JUNIOR, I. A review of introductions of pathogens and nematodes for classical biological control of insects and mites. **Biological Control**, Orlando, v. 41, n. 1, p. 1-13, 2007.

HELLE, W.; SABELIS, M. W. **Spider mites: their biology, natural enemies and control**. Amsterdam: Elsevier, 1985. 406 p.

HO, C. C.; CHEN, W. H. Evaluation of feeding and ovipositing responses of *Scolothrips indicus* (Thysanoptera: Aeolothripidae) to amounts of Kanzawa spider mite eggs (Acari: Tetranychidae). **Plant Protection Bulletin**, Taipei, v. 43, n. 3, p. 165-172, 2001.

HOUCK, M. A. Time and resource partitioning in *Stethorus punctum* (Coleoptera: Coccinellidae). **Environmental Entomology**, Oxford, v. 20, n. 2, p. 494-497, 1991.

HUANG, K. *Aceria* (Acarina: Eriophyoidea) in Taiwan: five new species and plant abnormalities caused by sixteen species. **Zootaxa**, New Zealand, v. 1829, p. 1-30, 2008.

JEPSON, L. R.; KEIFER, H. H.; BAKER, E. W. **Mites injurious to economic plants**. Berkeley: University of California, 1975. 641 p.

KHANJANI, J.; KAMALI, K. SAHRAGARD, A. Functional response of *Anystis baccarum* (L.) (Acari: Anystidae) to different densities of two spotted spider mite, *Tetranychus turkestanii* U. & N. (Acari: Tetranychidae). **Agricultural Sciences and Technology**, [S. I.], v. 13, n. 2, p. 141-147, 1999.

KRANTZ, G. W. Dissemination of *Kampimodromus aberrans* by the filbert mite. **Journal of Economic Entomology**, Oxford, v. 66, n. 2, p. 575-6, 1973.

KRIPS, O. E.; WITUL, A.; WILLEMS, P. E. L.; DICKE, M. Intrinsic rate of population increase of the spider mite *Tetranychus urticae* on the ornamental crop gerbera: intraespecific variation in host plant and herbivore. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Oxford, v. 89, n. 2, p. 159-168, 1998.

KUMAR, P. S. *Hirsutella thompsonii* as mycoacaricide for *Aceria guerreronis* on coconut in India: research, development, and other aspects. In: SABELIS, M. W.; BRUIN, J. (Ed.). **Trends in Acarology**, Dordrecht, Springer, 2010. p. 441-444.

KUMAR, P. S.; SINGH, L. Enabling mycelial application of *Hirsutella thompsonii* for managing the coconut mite. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 46, n. 1-4, p.169-182, 2008.

LAWSON-BALAGBO, L. M.; GONDIM, M. G. C.; MORAES, G. J.; HANNA, R.; SCHAUSBERGER, P. Exploration of the acarine fauna on coconut palm in Brazil with emphasis on *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae) and its natural enemies. **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 98, n. 1, p. 83-96, 2008.

LAWSON-BALAGBO, L. M.; GONDIM, M. G. C.; MORAES, G. J.; HANNA, R.; SCHAUSBERGER, P. Life history of the predatory mites *Neoseiulus paspalivorus* and *Proctolaelaps bickleyi*, candidates for biological control of *Aceria guerreronis*. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 43, n. 1, p. 49-61, 2007.

LESNA, I.; SABELIS, M. W.; CONIJN, C. Biological control of the bulb mite, *Rhizoglyphus robini*, by the predatory mite, *Hypoaspis aculeifer*, on lilies: predator-prey interactions at various spatial scales. **Journal of Applied Ecology**, Oxford, v. 33, n. 2, p. 369-376, 1996.

LEUPRECHT, B. Occurrence of tomato rust mite in tomatoes under glass. **Gemüse**, Munchen, v. 36, n. 3, p.26-27, 2000.

LIMA, D. B.; MELO, J. W. S.; GONDIM, M. G. C.; MORAES, G. J. Limitations of *Neoseiulus baraki* and *Proctolaelaps bickleyi* as control agents of *Aceria guerreronis*. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 56, n. 3, p. 233-246, 2012.

LIN, J-Z.; ZHANG, Z-Q. **Tardsanomidae of the world: Key to genera, geographical distribution, systematic catalogue & annotated bibliography**. London: Systematic and Applied Acarology Society, 2002. 440 p.

LOFEGO, A.; MORAES, G. D. Taxa de oviposição dos predadores *Amblyseius acalyphus* e *Amblyseius neochiapensis* (Acari: Phytoseiidae) com diferentes tipos de alimento. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 72, n. 3, p. 379-382, 2005.

LOPES, E. N. **Bioecologia de *Polyphagotarsonemus latus* em acessos de pinhão manso (*Jatropha curcas*)**. 2009. 70 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

MASCARIN, G. M.; PAULI, G. Bioprodutos à base de fungos entomopatogênicos. In: VENZON, M.; PAULA JÚNIOR, T. J.; PALLINI, A. (Ed.). **Controle alternativo de pragas e doenças na agricultura orgânica**. Visconde de Rio Branco: Suprema, 2010. p.169-196.

MATIOLI, A. L.; OLIVEIRA, C. A. L. D. Biologia de *Agistemus brasiliensis* Matioli, Ueckermann & Oliveira (Acari: Stigmaeidae) e sua potencialidade de predação sobre *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 36, n. 4, p. 577-582, 2007.

MATOS, C. H. C. **Mecanismos de defesa constitutiva em espécies de pimenta *Capsicum* e sua importância no manejo do ácaro branco *Polyphagotarsonemus latus* (Banks, 1904) (Acari: Tarsonemidae)**. 2006. 62 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

MATOS, C. H. C.; PALLINI, A.; CHAVES, F. F.; GALBIATI, C. Do coffee domatia benefit the predatory mite *Iphiseiodes zuluagai* Denmark e Muma (Acari: Phytoseiidae)? **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 1, p. 57-63, 2004.

MATOS, C. H. C.; PALLINI, A.; CHAVES, F. F.; SCHOEREDER, J. H.; JANSSEN, A. Do domatia mediate mutualistic interactions between coffee plants and predatory mites? **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Oxford, v. 118, n. 3, p. 185-192, 2006.

MCMURTRY, J. A.; CROFT, B. A. Life-styles of phytoseiid mites and their roles in biological control. **Annual Review of Entomology**, v. 42, p. 291-321, 1997.

MCMURTRY, J.; SCRIVEN, G. Population increase of *Phytoseiulus persimilis* (Acarina: Phytoseiidae) on different insectary feeding programs. **Journal of Economic Entomology**, Oxford, v. 68, n. 3, p. 319-321, 1975.

MCMURTRY, J.; MORAES, G.; SOURASSOU, N. F. Revision of the lifestyle of phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae) and implications for biological control strategies. **Systematic and Applied Acarology**, London, v. 18, n. 4, p. 297-320, 2013.

MELO, J. W.; LIMA, D.; PALLINI, A.; OLIVEIRA, J.; GONDIN JUNIOR, M. G. C. Olfactory response of predatory mites to vegetative and reproductive parts of coconut palm infested by *Aceria guerreronis*. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 55, n. 2, p. 191-202, 2011.

MEYER, G. A.; KOVALESKI, A.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M. Seletividade de agrotóxicos usados na cultura da macieira a *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 31, n. 2, p.381-387, 2009.

MONTEIRO, L. B. Criação de ácaros fitófagos e predadores: um caso de produção de *Neoseiulus californicus* por produtores de maçã. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. Manole, São Paulo. 2002. p. 351-365.

MONTEIRO, L. B. Manejo integrado de *Panonychus ulmi* em macieira: primeiras experiências com a introdução de *Neoseiulus californicus*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 16, n. 1, p. 46-53, 1994.

MONTEIRO, L. B. Seletividade de inseticidas a *Neoseiulus californicus* McGregor (Acari: Phytoseiidae) em macieira, no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 23, n. 3, p. 589-592, 2001.

MONTEIRO, L. B.; BELLI, L.; SOUZA, A. D.; WERNER, A. L. Efeito do manejo de plantas daninhas sobre *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) em pomar de macieira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 24, n. 3, p. 680-682, 2002.

MONTEIRO, L. B.; SOUZA, A.; PASTORI, P. L. Comparação econômica entre controle biológico e químico para o manejo de ácaro-vermelho em macieira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 28, n. 3, p. 514-517, 2006.

MOORE, D. Non-chemical control of *Aceria guerreronis* on coconuts. **Biocontrol News Information**, London, v. 21, n. 3, p. 83-87. 2000.

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.; MCMURTRY, J. A. Suitability of the spider mite *Tetranychus evansi* as prey for *Phytoseiulus persimilis*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Oxford, v. 40, n. 2, p. 109-115, 1986.

MORAES, G. J.; ZACARIAS, M. S. Use of predatory mites for the control of eriophyid mites. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON COCONUT MITE (*Aceria guerreronis*), 2002, Lunuwila. **Proceedings....** Lunuwila: Coconut Research Institute, 2002. p. 78-88.

MORAES, G. J.; MCMURTRY, J. A.; DENMARK, H. A.; CAMPOS, C. B. A revised catalog of the mite family Phytoseiidae. **Zootaxa**, Auckland, v. 434, p.1-494, 2004.

MORAES, G. J.; MOREIRA, A. N.; DELALIBERA, I. Growth of mite *Mononychellus tanajoa* (Acari: Tetranychidae) on alternative plant hosts in northeastern Brazil. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 78, n. 2, p. 350-354, 1995.

MORAES, G. J.; REIS, A. C.; GONDIM JUNIOR, M. G. C. A new species of *Proctolaelaps* Berlese (Acari: Ascidae) from northeastern Brazil. **International Journal of Acarology**, Oak Park, v. 34, n. 3, p. 267-272, 2008.

NAKANO, O.; SANCHES, G. A.; ISHIDA, A. K. Redução na infestação do ácaro da leprose *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) em citros através do controle da verrugose. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 8, p. 19-33, 1987.

NAUEN, R.; STUMPF, N.; ELBERT, A.; ZEBITZ, C. P. W.; KRAUS, W. Acaricide toxicity and resistance in larvae of different strains of *Tetranychus urticae* and *Panonychus ulmi* (Acari: Tetranychidae). **Pest Management Science**, West Sussex, v. 57, n. 3, p. 253-261, 2001.

NÁVIA, D.; MORAES, G. J.; LOFEGO, A. C.; FLECHTMANN, C. H. W. Acarofauna associada a frutos de coqueiro (*Cocos nucifera* L.) de algumas localidades das Américas. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, n. 2, p. 349-354, 2005.

NGUYEN, T.; SHIH, C. Development of *Neoseiulus womersleyi* (Schicha) and *Euseius ovalis* (Evans) feeding on four tetranychid mites (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae) and pollen. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, Amsterdam, v. 13, n. 4, p. 289-296, 2010.

NOMIKOU, M.; JANSSEN, A.; SABELIS, M. W. Phytoseiid predators of whiteflies feed and reproduce on non-prey food sources. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 31, n. 1, p. 15-26, 2003.

NOMIKOU, M.; JANSSEN, A.; SCHRAAG, R.; SABELIS, M. W. Phytoseiid predators as potential biological control agents for *Bemisia tabaci*. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 25, n. 4, p. 271-291, 2001.

NOMIKOU, M.; JANSSEN, A.; SCHRAAG, R.; SABELIS, M. W. Phytoseiid predators suppress populations of *Bemisia tabaci* on cucumber plants with alternative food. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 27, n. 1, p. 57-68, 2002.

NOMIKOU, M.; SABELIS, M. W.; JANSSEN, A. Pollen subsidies promote whitefly control through the numerical response of predatory mites. **Biocontrol**, Dordrecht, v. 55, n. 2, p. 253-260, 2010.

NORTON, A.; ENGLISH-LOEB, G.; BELDEN, E. Host plant manipulation of natural enemies: leaf domatia protect beneficial mites from insect predators. **Oecologia**, Berlin, v. 126, n. 4, p. 535-542, 2001.

O'DOWD, D. Mite association with the leaf domatia of coffee (*Coffea arabica*) in North Queensland, Australia. **Bulletin of Entomological Research**, Cambridge, v. 84, n. 3, p. 361-366, 1994.

OLIVEIRA, H.; FADINI, M.A.M.; VENZON, M.; REZENDE, D.; REZENDE, F.; PALLINI, A. Evaluation of the predatory mite *Phytoseiulus macropilis* (Acari: Phytoseiidae) as a biological control agent of the two-spotted spider mite on strawberry plants under greenhouse conditions. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 47, n. 4, p. 275-283, 2009.

OVERMEER, W. P. J. Natural enemies of the Tetranychidae: techniques, rearing and handling. In: HELLE, W.; SABELIS, M. W. (Ed.). **Spider mites their biology, natural enemies and control**. Amsterdam: Elsevier Science, 1985. p. 161-170.

PALEVSKY, E.; SOROKER, V.; WEINTRAUB, P.; MANSOUR, F.; ABO-MOCH, F.; GERSON U. How species-specific is the phoretic relations between the broad mite, *Polyphagotarsonemus latus* (Acari: Tarsonemidae), and its insects hosts? **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 25, n. 3, p. 217-224, 2001.

PAULA JÚNIOR, T. J.; VENZON, M.; MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W.; TEIXEIRA, H. Comercialização de produtos biológicos para o controle de doenças de plantas e pragas no Brasil. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 30, n. 251, p. 116-24, 2009.

PETERSON, P. G.; MCGREGOR, P. G.; SPRINGETT, B. P. Density dependent prey-feeding time of *Stethorus bifidus* (Coleoptera: Coccinellidae) on *Tetranychus lintearius* (Acari: Tetranychidae). **New Zealand Journal of Zoology**, Abingdon, v. 27, n. 1, p. 41-44, 2000.

PINTO, C. M. F.; SALGADO, L. T.; LIMA, P. C.; PIKANÇO, M.; JÚNIOR, T. P. J.; MOURA, W. M.; BROMMONSCHENKEL, S. H. **A cultura da pimenta (*Capsicum* sp.)**. Belo Horizonte: EPAMIG, 1999. 40 p. (Boletim Técnico, 56).

POINAR JUNIOR, G.; POINAR, R. Parasites and pathogens of mites. **Annual Review Entomology**, Palo Alto, v. 43, p. 449-469, 1998.

POLETTI, M. Ácaros predadores no controle de pragas. In: VENZON, M.; PAULA JÚNIOR, T.J.; PALLINI, A. (Ed.). **Controle alternativo de pragas e doenças na agricultura orgânica**. Visconde de Rio Branco, MG: Suprema, 2010. p. 213-232.

RAGA, A.; MINEIRO, J. L. C.; SATO, M. E.; MORAES, G. J.; FLECHTMANN, C. H. W. Primeiro relato de *Aceria litchii* (Keifer) (Prostigmata: Eriophyidae) em plantas de lichia no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 32, n. 2, p. 628-629, 2010.

RAMARAJU, K.; NATARAJAN, K.; SUNDARA BADU, P. C.; PALANISAMY, S.; RABINDRA, R. J. Studies on coconut eriophyid mite, *Aceria guerreronis* Keifer in Tamil Nadu, India. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON COCONUT MITE (*Aceria guerreronis*), 2002, Lunuwila. **Proceedings...** Lunuwila: Coconut Research Institute, 2002. p. 13-31.

RAWORTH, D. A.; FAVUEL, G.; AUGER, P. Location, reproduction and movement of *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) during the autumn, winter and spring in orchards in the south of France. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 18, n. 10, p. 593-602, 1994.

REIS, A. C.; GONDIM JUNIOR, M. G. C.; MORAES, G. J.; HANNA, R.; SCHAUSBERGER, P.; LAWSON-BALAGBO, L. E. Population dynamics of *Aceria guerreronis* Keifer (Acari: Eriophyidae) and associated predators on coconut fruits in Northeastern Brazil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 37, n. 4, p. 457-462, 2008.

REIS, P. R.; ALVES, E. B. Criação do ácaro predador *Iphiseiodes zuluagai* Denmark e Muma (Acari: Phytoseiidae) em laboratório. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 26, n. 3, p. 565-568, 1997.

REIS, P. R.; SOUZA, J. C. D.; SOUSA, E. O.; TEODORO, A. V. Distribuição espacial do ácaro *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) (Acari: Tenuipalpidae) em cafeeiro. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 347-352, 2000.

REIS, P. R.; TEODORO, A. V.; NET, M.; SILVA, E. Life history of *Amblyseius herbicolus* (Chant) (Acari: Phytoseiidae) on coffee plants. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 36, n. 2, p. 282-287, 2007.

RIBEIRO, A. E. L.; GONDIM JUNIOR, M. G. C.; CALDERAN, E.; DELALIBERA JUNIOR, I. Host range of *Neozygites floridana* isolates (Zygomycetes: Entomophthorales) to spider mites. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 102, n. 3, p.196-202, 2009.

RIJN, P. van; TANIGOSHI, L. Pollen as food for the predatory mites *Iphiseius degenerans* and *Neoseiulus cucumeris* (Acari: Phytoseiidae): dietary range and life history. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 23, n. 10, p. 785-802, 1999a.

RIJN, P. van; TANIGOSHI, L. The contribution of extrafloral nectar to survival and reproduction of the predatory mite *Iphiseius degenerans* on *Ricinus communis*. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 23, n. 4, p. 281-296, 1999b.

RIJN, P. van; HOUTEN, Y. van; SABELIS, M. W. How plants benefit from providing food to predators even when it is also edible to herbivores. **Ecology**, Hoboken, v. 83, n. 10, p. 2664-2679, 2002.

RODRÍGUEZ-CRUZ, F. A. **Potencial de *Amblyseius herbicolus* (Acari: Phytoseiidae) para o controle biológico de *Polyphagotarsonemus latus* em pimenta malagueta**. 2010. 60 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

RODRÍGUEZ-CRUZ, F. A.; VENZON, M.; AMARAL, D. S. S. L.; DUARTE, M. V. A. Plantas espontâneas como refúgio do ácaro-branco e seus inimigos naturais em pimenta malagueta. **Cadernos de Agroecologia**, Cruz Alta, v. 6, n. 2, p. 1-5, 2011.

ROSADO, M. C. **Plantas favoráveis a agentes de controle biológico**. 2007. 59 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SABELIS, M. W.; BAAN, H. E. van de Location of distant spider mite colonies by phytoseiid predators: Demonstration of specific kairomones emitted by *Tetranychus urticae* and *Panonychus ulmi*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Oxford, v. 33, n. 3, p. 303-314, 1983.

SABELIS, M. W.; BRUIN, J. Evolutionary ecology: life history patterns, food plant choice and dispersal. In: LINDQUIST, E. E.; SABELIS, M. W.; BRUIN, J. (Ed.). **World crop pests: eriophyoid mites, their biology, natural enemies and control.** Amsterdam: Elsevier, 1996. p. 329-365.

SABELIS, M. W.; DICKE, M. Long-range dispersal and searching behaviour. In: HELLE, W.; SABELIS, M. W. **Spider mites: their biology, natural enemies and control.** Amsterdam: Elsevier, 1985. p.141-60.

SABELIS, M. W.; JANSSEN, A.; BRUIN, J.; BAKKER, F. M.; DRUKKER, B.; SCUTEREANU, P.; RIJN, P. C. J. van. Interactions between arthropod predators and plants: a conspiracy against herbivorous arthropods? In: BRUIN, J.; GEEST, L. P. S. van der; SABELIS, M. W. (Ed.). **Ecology and evolution of the acari.** Dordrecht: Kluwer, 1999. p. 207-229.

SARMENTO, R. A.; RODRIGUES, D. M.; FARAJI, F.; ERASMO, E.; LEMOS, F.; TEODORO, A. V.; KIKUCHI, W. T.; SANTOS, G. R.; PALLINI, A. Suitability of the predatory mites *Iphiseiodes zuluagai* and *Euseius concordis* in controlling *Polyphagotarsonemus latus* and *Tetranychus bastosi* on *Jatropha curcas* plants in Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 53, n. 3, p. 203-214, 2011.

SATO, M. E. S.; PASSEROTTI, C. M.; TAKEMATSU, A. P.; SOUZA FILHO, M. F. de; POTENZA, M. R.; SIVIERI, A. P. Resistência de *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) a acaricidas, em pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch) em Paranapanema e Jundiaí-SP. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 67, n. 1, p. 117-123, 2000.

SATO, M. E. S.; SILVA, M. Z.; SILVA, R. B.; SOUZA FILHO, M. F.; RAGA, A. Monitoramento da resistência de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) a abamectin e fenpyroximate em diversas culturas no estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 76, n. 2, p. 217-223, 2009.

SILVA, M. Z.; OLIVEIRA, C. A. L.; SATO, M. E. Seletividade de produtos fitossanitários sobre o ácaro predador *Agistemus brasiliensis* Matioli, Ueckermann & Oliveira (Acari: Stigmaeidae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 31, n. 2, p. 388-396, 2009.

SOUZA FILHO, M. F. de; SUPLICY FILHO, N.; SATO, M. E.; TAKEMATSU, A. P. Suscetibilidade do ácaro-rajado proveniente de Pilar do Sul-SP, a diversos acaricidas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 29, n. 8, p. 1187-1192, 1994.

TAKAFUJI, A. The effect of the rate of successful dispersal of a phytoseiid mite, *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot on the persistence in the interactive system between the prey and its predator. **Researches on Population Ecology**, Kyoto, v. 18, n. 1, p. 210-22, 1977.

TEODORO, A. V.; FADINI, M. A. M.; LEMOS, W. P.; GUEDES, R. N. C.; PALLINI, A. Lethal and sub-lethal selectivity of fenbutatin oxide and sulfur to the predator *Iphiseiodes zuluagai* (Acari : Phytoseiidae) and its prey, *Oligonychus ilicis* (Acari : Tetranychidae), in Brazilian coffee plantations. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 36, n. 1-2, p. 61-70, 2005.

TEODORO, A. V.; PALLINI, A.; OLIVEIRA, C. Sub-lethal effects of fenbutatin oxide on prey location by the Leaves with domatia have more mites predatory mite *Iphiseiodes zuluagai* (Acari: Phytoseiidae). **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 47, n. 4, p. 293-299, 2009.

TURNER, C.; PEMBERTON, R. Potential facultative mutualism between plants with leaf domatia and beneficial mites. **American Journal of Botany**, Lancaster, v. 74, n. 5, p. 643-644, 1987.

VENZON, M.; AMARAL, D. S.; PEREZ, A.; RODRÍGUEZ-CRUZ, F. A.; TOGNI, P. H. B.; OLIVEIRA, R. M. **Identificação e manejo ecológico de pragas da cultura da pimenta**. Vicoso: Unidade Regional da Zona da Mata. 2011. p. 40.

VENZON, M.; MATOS, C. H. C.; PALLINI, A. SANTOS, I. C. Pragas associadas à cultura de pimenta malagueta e estratégias de manejo. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 27, n. 235, p. 75-86, 2006.

WAITE, G. K.; HWANG, J. S. Pests of litchi and longan. In: PEÑA, J. E.; SHARP, J. L.; WYSOKI, M. (Ed.). **Tropical fruit pests and** Pollinators: biology economic importance, natural enemies and control. Wallingford: CABI, 2002. p. 331-359.

WALTER, D. Living on leaves: mites, tomenta and leaf domatia. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 41, p. 101-114, 1996.

WALTER, D.; O'DOWD, D. Leaves with domatia have more mites. **Ecology**, Hoboken, v. 73, n. 4, p. 1514-1518, 1992.

WALTER, D. E.; CAMPBELL, N. J. H. Exotic vs endemic biocontrol agents: would the real *Stratiolaelaps miles* (Berlese) (Acari: Mesostigmata: Laelapidae), please stand up? **Biological Control**, Orlando, v. 26, n. 3, p. 253-269, 2003.

WEKESA, V. W.; VITAL, S.; SILVA, R. A.; ORTEGA, E. M. M.; KLINGEN, I.; DELALIBERA JUNIOR, I. The effect of host plants on *Tetranychus evansi*, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and on their fungal pathogen *Neozygites floridana* (Entomophthorales: Neozygiteaceae). **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 107, n. 2, p. 139-145, 2011.

YUE, B.; TSAI, J. Development, survivorship, and reproduction of *Amblyseius largoensis* (Acari: Phytoseiidae) on selected plant pollens and temperatures. **Environmental Entomology**, Oxford, v. 25, n. 2, p. 488-494, 1996.

ZHANG, Z. Q. Mites of greenhouses: identification, biology, and control. Cambridge: CABI, Cambridge, 2003. 235 p.

## Controle Biológico em Cultivo Protegido

Vanda H. P. Bueno, Joop C. van Lenteren, Wagner Bettiol e Willem Ravensberg

---

### Introdução

O cultivo protegido vem sendo extensivamente utilizado por muitos agricultores ao redor do mundo. Nos últimos 24 anos a superfície com casas de vegetação cresceu mais do que 100%, com um aumento de 4,4% ao ano. Um forte crescimento na área com cultivo protegido se observa em novas regiões, principalmente na Ásia, no Mediterrâneo e na América Latina. Esse crescimento se deve ao alto retorno financeiro obtido com os cultivos protegidos (BUENO, 2005a, 2005b). Lenteren (2006) estimou que a produção (hortaliças, ornamentais e mudas) foi superior a 2.400.000 ha ao redor do mundo, com aproximadamente 45.000 ha em casas de vegetação com cobertura de vidro. A província de Almeria, na Espanha, tem aproximadamente 27.000 ha de horticultura protegida, provavelmente representando a maior concentração de casas de vegetação no mundo (BLOM et al., 2008, 2009). No Brasil, a estimativa é de aproximadamente 30.000 ha com cultivos protegidos. Desse total a produção de flores representa aproximadamente 10%.

O cultivo protegido permite aos agricultores compensarem os efeitos negativos das variações climáticas, tais como a intensidade luminosa e temperatura e a disponibilidade de água no desenvolvimento das plantas, com aumento da produção, o que possibilita maior disponibilização do produto no mercado e, a um certo grau,

auxilia na exclusão das pragas (MANRIQUE, 1993; PILKINGTON et al., 2010).

Sistemas de produção em casas de vegetação são únicos com características ecológicas próprias e peculiares que os tornam completamente diferentes de outros agroecossistemas naturais ou manejados. Em casas de vegetação cria-se um ambiente específico que determina a natureza da infestação de uma praga ou a severidade de uma doença, e molda o papel dos agentes de controle biológico como os insetos parasitoides e predadores, os ácaros predadores, os agentes entomopatogênicos e os agentes de biocontrole de doenças, os quais poderão ser usados em programas de controle de pragas e doenças. Em cultivo protegido as teias alimentares são artificiais e complexas, sendo que o próprio agricultor cria e determina a natureza dessas teias nos cultivos. Também as interações tritróficas são instáveis, de modo que os sistemas de produção em casas de vegetação raramente chegam a um equilíbrio dinâmico. Entretanto, são sistemas que permitem uma produção limpa e eficiente, tanto de hortaliças, como de ornamentais, frutas e outras, como mudas de eucalipto, pinus, fumo, banana e citros.

Estes sistemas foram criados para fornecer abrigo e proteção às plantas. Entretanto, essas adequadas condições fornecidas para as plantas também propiciam a multiplicação de insetos e de patógenos, sendo que o número de pragas e doenças tem aumentado nessas condições. Assim, a preocupação dos agricultores quanto ao controle das pragas e doenças nesse ambiente tem aumentado. Em casas de vegetação, as condições climáticas são constantes, produzindo um ambiente adequado para a sobrevivência e reprodução desses organismos. Além disso, a presença contínua de plantas em diversos estádios fenológicos de cultivo também favorecem o desenvolvimento das pragas e das doenças.

As altas infestações de pragas e doenças determinam a necessidade de programas rotineiros de pulverizações de inseticidas, acaricidas e fungicidas, o que leva à ausência de inimigos naturais e antagonistas no interior das casas de vegetação e à seleção de insetos/ ácaros e patógenos resistentes aos produtos químicos utilizados. Os pulgões, moscas-brancas, tripses, moscas-minadoras e ácaros estão entre as pragas cujas populações têm sido mais selecionadas à resistência a muitos inseticidas e acaricidas aplicados devido ao alto potencial biótico (grande capacidade reprodutiva). Um grande número de fitopatógenos tem se tornado resistente aos principais fungicidas aplicados, como por exemplo *Botrytis cinerea*, Pers.:Fr. e uma diversidade de espécies causadoras de oídios. Assim, a busca por novos modelos de manejo e/ou estratégias de controle é fundamental para a sustentabilidade e sucesso da atividade.

Neste sentido, o controle biológico de pragas e doenças é atualmente uma realidade promissora e desejável em sistemas de cultivos protegidos. De acordo com Lenteren (2007, 2012), o controle biológico de pragas apresenta potencial e é aplicado com sucesso em casas de vegetação por várias razões: não apresenta efeito fitotóxico, principalmente nas plantas jovens; a liberação de inimigos naturais é mais rápida e segura e menos trabalhosa do que realizar pulverizações com produtos fitossanitários; a liberação dos inimigos naturais pode ser feita no início do cultivo, sendo que o controle é efetivo por mais tempo, enquanto que com o controle químico há a necessidade de reaplicações constantes; a re-entrada na casa de vegetação pode ser realizada logo após a liberação do inimigo natural, sendo possível continuar os tratamentos culturais, inclusive a realização da colheita; o controle químico não é eficiente para algumas pragas, como mosca-branca, tripses e mosca-minadora; há poucos produtos fitossanitários novos registrados para cultivos protegidos; os inimigos naturais não perdem a eficiência com o uso contínuo; o controle biológico é reconhecido pelo público como uma tecnologia

limpa e assim o produto alcança melhor preço e incentiva a exportação. Além de algumas vantagens citadas anteriormente para o controle biológico de doenças, as condições climáticas dentro da casa de vegetação são favoráveis aos antagonistas e apresentam facilidade de atingir o alvo. Associado a essas razões, outro aspecto importante é a inexistência ou pequena oferta de pesticidas registrados para uso em casa de vegetação (PAULITZ; BELANGER, 2001).

O controle biológico de pragas é usado em todos os principais cultivos de hortaliças e flores, sua ação se estende em 5% de toda a área com casas de vegetação ao redor do mundo e existe potencial para aumento deste uso em cerca de 20% nos próximos 10 anos (LENTEREN, 2009, 2012). Bettiol (2011) aponta o uso em mais de 10% da área cultivada para o controle biológico de doenças em cultivo protegido. Tem sido, também, demonstrado que o uso de agentes de controle biológico em cultivos em casas de vegetação é uma alternativa viável ao uso de produtos fitossanitários, tanto da perspectiva ambiental como econômica (PAULITZ; BELANGER, 2001).

## **Tipos de controle biológico de pragas**

O controle biológico de pragas em casa de vegetação pode envolver o controle natural, a conservação e o controle aumentativo.

### **Controle biológico natural**

Consiste na redução de organismos-pragas por seus inimigos naturais sem a interferência do homem. Em termos econômicos, a maior contribuição do controle biológico para a agricultura não vem por meio do que o homem faz, mas sim do controle natural (WAA-GE; GREATHEAD, 1988). Um bom exemplo desse fenômeno é re-

portado por Lenteren (2010) sobre a redução de moscas-minadoras em casas de vegetação na Holanda. Parasitoides que se desenvolvem em moscas-minadoras, presentes em plantas invasoras, voam para o interior das casas de vegetação na primavera e efetivamente reduzem a população de mosca-minadora. Estudos conduzidos por Carvalho et al. (2009) revelaram que em área produtora com cultivo protegido de alface americana no Brasil, as moscas-minadoras ocorrem em maior número durante o verão comparado aos da primavera, e que taxas de parasitismo, principalmente por parasitoides do gênero *Opius*, foram mais altas na primavera do que no verão. Isto demonstra que existem possibilidades da ocorrência do controle biológico natural em sistemas de cultivos protegidos.

### **Controle biológico conservativo**

Este tipo de controle biológico consiste de ações que protegem e estimulam o desempenho de inimigos naturais que ocorrem naturalmente. Estas ações envolvem modificação e/ou manipulação do ambiente para favorecer a sobrevivência e o desempenho do inimigo natural, ou seja, manter reservas como fontes de habitat e diversificação da vegetação na área cultivada. Isso promoverá a disponibilidade e abundância de alimento alternativo, hospedeiro e/ou presa alternativa, fornecerá áreas de refúgio e de microclima para condições adversas. Assim, existem muitas oportunidades para o manejo e a manipulação do ambiente, mesmo em casas de vegetação (LENTEREN, 2009).

Na conservação, o manejo adequado dos arredores das casas de vegetação pode estimular que muitos parasitoides e predadores migrem para as estruturas protegidas, e muitas vezes proporcionem o controle de pragas. A manutenção de refúgios e/ou de presa/hospedeiros alternativos no interior das casas de vegetação pode ser importante para o controle de muitas pragas nestes sistemas. Segundo Urbaneja e Jacas (2008), a provisão de presas alterna-

tivas é uma das maneiras de conservar a presença no cultivo do percevejo mirideo *Macrolophus pygmaeus* Rambour, predador da mosca-branca, *Bemisia* sp. e *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) e da traça-do-tomateiro *Tuta absoluta* (Meyrick).

Inimigos naturais podem ser mantidos, também, no interior das casas de vegetação com a provisão de hospedeiro alternativo por meio da utilização de criações abertas ou plantas banqueiras, as quais hospedam inimigos naturais. Nesse sistema é utilizada uma planta, diferente da planta cultivada, que tenha um inseto que se alimenta dela, mas que não ataque as plantas cultivadas e que seja hospedeiro/presa para um inimigo natural que também ataque a praga na cultura principal. A planta associada à cultura principal deve apresentar certas características como: (1) sobrevivência no ambiente selecionado com manutenção mínima e com fácil trato agrônomico; (2) habilidade para competir com plantas invasoras não desejáveis; (3) florescimento em época que não coincida com a cultura principal, para evitar a migração de polinizadores desta para a associada; (4) fornecer seletivamente recursos aos inimigos naturais sem beneficiar os insetos fitófagos; (5) não hospedar os mesmos herbívoros da cultura principal; (6) não ser hospedeira de fitopatógenos da cultura principal; e (7) não ser hospedeira de vetores de doenças. Plantas banqueiras são usadas em casas de vegetação no sentido de promover o estabelecimento e o suporte de populações de determinado inimigo natural para melhorar o controle da praga. Trabalhos relatam o uso deste sistema para o controle de tripses (BENNISON et al., 2011; BUENO et al., 2009), controle de pulgões (YANO et al., 2011) e de outras pragas em cultivos protegidos.

### **Controle Biológico Aumentativo**

Envolve a comercialização de inimigos naturais e, particularmente, em casas de vegetação o mais utilizado é o controle biológico

inoculativo sazonal, onde inimigos naturais são criados em larga escala (criação massal) em biofábricas e liberados em números e frequência próprios, com propósitos de um controle imediato de pragas. O controle biológico aumentativo, que visa a comercialização de agentes entomófagos, tem três elementos essenciais: (1) produção massal de um agente de controle; (2) liberação do agente de controle; e (3) impacto sobre a população da praga.

Atualmente, em torno de 170 espécies de inimigos naturais invertebrados são produzidos e comercializados para liberações periódicas em controle biológico aumentativo de mais de 100 espécies de pragas, em aproximadamente 0,4% da área com cultivos (COCK et al., 2010). É estimado em 80% o retorno do comércio global gerado pelos agentes de controle biológico advindos do seu uso em casas de vegetação (LENTEREN, 2007). Estimativas mais recentes mostram que o número de inimigos naturais invertebrados comercializados para controle biológico está ao redor de 230 espécies (LENTEREN, 2012).

Dentro do contexto do controle biológico aumentativo, pode-se incluir o controle microbiano, que seria o uso de agentes entomopatogênicos, como os fungos, bactérias, vírus e nematoides, para o controle de insetos pragas (Tabela 1). O uso desses organismos em casas de vegetação é descrito por Blom (2009), Lenteren (2006), Perdakis et al. (2008) e Ravensberg (2011). No entanto, pouca informação está disponível especificamente sobre o uso desses bioinseticidas em cultivos em casas de vegetação.

Para muitas pragas, os agentes microbianos são, principalmente, usados como medidas corretivas ou aditivas de controle de insetos nos casos onde o uso de artrópodes benéficos é insuficiente. Deve-se salientar que o uso de entomopatógenos em programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP) necessita de cuidadosos estudos quanto às suas interações com outras medidas de controle,

seja com parasitoides e predadores ou com produtos químicos. Estudos de compatibilidade necessitam ser conduzidos com produtos químicos que podem afetar os agentes entomopatogênicos, assim como conduzir estudos desses agentes e seus possíveis efeitos negativos sobre artrópodes benéficos.

**Tabela 1.** Agentes entomopatogênicos usados como bioinseticidas em cultivos protegidos de hortaliças e ornamentais na Europa.

Agente Entomopatogênico	Praga alvo	Uso desde	Extensão de uso
<i>Bacillus thuringiensis</i> (Berliner) subsp. <i>kurstaki</i> <i>Bacillus thuringiensis</i> (Berliner) subsp. <i>aizawai</i>	Lagartas	1972	Uso em grande escala
<i>Bacillus thuringiensis</i> (Berliner) subsp. <i>israelensis</i>	Moscas, sciarídeos	1985	Muito limitado, ornamentais
<i>Bacillus thuringiensis</i> (Berliner) subsp. <i>tenebrionis</i>	Besouro colorado da batata	1990	Muito limitado
<i>Lecanicillium muscarium</i> (R. Zare & W. Gams)	Mosca-branca, tripes	1981	Limitado
<i>Lecanicillium longisporum</i> (R. Zare & W. Gams)	Pulgões	1982	Muito limitado*
<i>Beauveria bassiana</i> ((Bals.-Criv.) Vuill.)	Mosca-branca	2002	Limitado
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> ((Wize) A.H.S.Br. & G.Sm.)	Mosca-branca	1999	Muito limitado
<i>Metarhizium anisopliae</i> ((Metchnikoff) Sorokin)	Besouro-negro-da videira	2008	Limitado
<i>Spodoptera exigua</i> NPV (Hübner)	Lagarta militar	1994	Limitado, mas aumentando
<i>Steinernema feltiae</i> (Filipjev)	Sciarídeos, tripes	1984	Aumentando

Continua...

**Tabela 1.** Agentes entomopatogênicos usados como bioinseticidas em cultivos protegidos de hortaliças e ornamentais na Europa.

Agente Entomopatogênico	Praga alvo	Uso desde	Extensão de uso
<i>Heterorhabditis megidis</i> (Poinar, Jackson & Klein)	Besouro-negro-da videira	1984	Muito limitado
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> (Poinar)	Besouro-negro-da videira	1995	Limitado
<i>Steinernema carpocapsae</i> (Fili-pjev)	Lagartas, tipulídeos	2003	Limitado

\* não mais disponível

## Pragas e seus inimigos naturais em cultivos em casas de vegetação

As pragas comuns em cultivos em casas de vegetação são tipicamente polípagas, infestam diferentes plantas hospedeiras e são geralmente mais problemáticas em cultivos protegidos do que no campo. Isto porque encontram, normalmente, nas casas de vegetação fatores abióticos favoráveis quanto à temperatura e umidade, falta de inimigos naturais, tanto de agentes entomófagos como entomopatogênicos, e pela tendência de populações com resistência aos inseticidas convencionais serem selecionadas por causa do modelo típico usado na agricultura protegida (BIELZA, 2008). Devido à globalização dos produtos presentes em casas de vegetação, as pragas, em sua grande maioria, são as mesmas que ocorrem em todas as parte do mundo, sendo as mais importantes os ácaros, cochonilhas, fungus-gnats, lepidópteros, mosca-branca, mosca-minadora, pulgões e tripses. Segundo van der Blom et al. (2009), a baixa tolerância dos agricultores a essas pragas tem levado a intensivos programas de controle químico, e como resultado populações de várias pragas foram selecionadas com resistência contra os ingredientes ativos aplicados.

## Ácaros

Os ácaros são pragas em muitos cultivos ao redor do mundo. A grande capacidade reprodutiva dessas pragas os capacita a causar perdas econômicas muito rapidamente, sendo o ácaro-rajado *Tetranychus urticae* (Koch) a espécie mais comum e mais importante em casas de vegetação; espécies como o ácaro-branco *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) e o ácaro-do-bronzeamento *Aculops lycopersici* (Masse), assim como outras espécies de ácaros, também podem ter um papel relevante em cultivos protegidos.

O ácaro-rajado é uma espécie polífaga, isto é, alimenta-se de grande variedade de plantas, sendo praga tanto em ornamentais como em hortaliças cultivadas em casas de vegetação. Essa espécie de ácaro é considerada, também, praga primária em cultivos de morango em vários países, inclusive no Brasil (BUENO; POLETTI, 2009). O ataque pode reduzir o vigor da planta e diminuir a produção e o tamanho do fruto. As plantas jovens podem morrer se a população do ácaro não for controlada e eles são constatados, principalmente na parte superior das folhas. O ácaro-branco ataca, preferencialmente, as folhas mais tenras das brotações, resultando em deformações e rasgaduras. Os cultivos mais atacados pelo ácaro-branco são: tomate, pimentão, begônia e gérbera.

O ácaro-do-bronzeamento tem ocorrência restrita apenas às plantas da família Solanaceae, como tomate e berinjela (GRIFFITHS, 1999; MALAIS; RAVENSBERG, 2003; PIJNAKER; LEMAN, 2011).

O controle biológico de ácaros fitófagos é feito, principalmente, por meio do uso de ácaros predadores da família Phytoseiidae, que reúne a maioria dos ácaros predadores. Esses agentes de controle são empregados no controle biológico de ácaros em plantas ornamentais e hortaliças em cultivos protegidos. Várias espécies de ácaros predadores estão disponíveis comercialmente e são usa-

dos com sucesso em muitos cultivos em casas de vegetação, entre eles: *Amblyseius swirskii* (Athias-Henriot), *Neoseiulus californicus* (McGregor), *Neoseiulus cucumeris* (Oudemans), *Phytoseiulus persimilis* (Athias-Henriot) e *Phytoseiulus macropilis* (Banks).

A espécie mais amplamente usada é *Amblyseius swirskii*, um predador generalista, que, além de preda ácaros, pode também consumir outras espécies de insetos como mosca-branca e tripses. Sua ampla faixa de presas é vantajosa porque pode ser usado para o controle de múltiplas espécies de pragas em casa de vegetação. A comercialização desse ácaro predador vem sendo feita desde o ano 2005 na Europa, norte e sul da África, Ásia e México (LENTEREN, 2012). Os ácaros predadores *Neoseiulus californicus* e *Phytoseiulus macropilis* são espécies comercializadas no Brasil (BUENO; POLETTI, 2009) para controle de *Tetranychus urticae* em morango e ornamentais em cultivos protegidos.

Os fungos *Beauveria bassiana* e *Lecanicillium muscarium* tem algum efeito de controle sobre ácaros fitófagos, mas eles não são usados com frequência para este fim.

## **Cochonilhas**

As cochonilhas são insetos sugadores e importantes pragas em cultivos de hortaliças e plantas ornamentais em casas de vegetação. Embora mais de 15 espécies de cochonilhas possam ocorrer em cultivos protegidos, as mais prejudiciais pertencem aos gêneros *Planococcus* e *Pseudococcus* (Pseudococcidae). Entre essas, *Planococcus citri* (Risso) é uma das mais importantes por causar maiores danos econômicos, ser tolerante às condições climáticas e ser encontrada em mais de 25 plantas. Essas cochonilhas são conhecidas como cochonilha-branca ou farinhenta, pelo fato da maioria das espécies de Pseudococcidae apresentar o corpo coberto

por uma capa cerosa finamente granulada que lhes dá o aspecto de terem sido envolvidas em farinha branca, sendo chamadas de "mealybug". Aparecem com frequência em cultivos de ornamentais, mas podem também causar problemas em cultivos de tomate, e com menos intensidade em pepino, melão e berinjela (MALAIS; RAVENSBERG, 2003). Cochonilhas também foram relatadas atacando cultivos de rúcula, cactos e rosas (BUENO, 2010).

Particularmente em ornamentais, além da sucção da seiva, reduzem o valor estético e comercial das plantas. Frequentemente se observa descoloração das folhas acompanhada de necrose nas bordas, manchando frutos e flores e reduzindo a qualidade e o valor comercial do produto final. A disseminação é muito rápida, pois tanto ninfas quanto as fêmeas adultas podem ser levadas pelo vento, pela movimentação do homem e do ar no interior da casa de vegetação, ou migrando por locomoção própria para outras plantas. A ocorrência de cochonilhas pode ser constante durante todo o ciclo do cultivo, variando a intensidade de infestação, sendo que a fase reprodutiva da cultura é considerada a mais crítica. Em cultivos de ornamentais a presença de "mealybug" é suficiente para tornar o produto inadequado para o mercado, assim uma população pequena pode causar dano econômico considerável.

O controle biológico tem um papel importante contra esses insetos. São relatados agentes biológicos como o parasitoide *Leptomastix dactylopii* Howard e coccinelídeos predadores como: *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant, *Azya luteipes* Mulsant, *Hyperaspis notata* Mulsant e *Pentilia egena* Mulsant, além de várias espécies de moscas da família Syrphidae. Segundo Lenteren (2012), a joaninha *Cryptolaemus montrouzieri* é comercializada e utilizada para o controle de pseudococcídeos e coccídeos na Europa, norte e sul da África, América Latina, Ásia, Austrália e Nova Zelândia, desde 1917, por meio do controle biológico aumentativo em larga escala. O parasitoide *Leptomastix dactylopii* é usado em média escala na

Europa, norte da África e América do Norte para o controle de pseudococcídeos desde 1984.

## **Fungus gnats**

São pragas importantes em cultivos de cogumelos, hortaliças e flores cultivadas em casas de vegetação (KIM et al., 2004). A maioria pertence ao gênero *Bradysia* e são conhecidas como “sciara”, sendo encontradas em ambientes úmidos e são as pragas mais comuns em casas de vegetação. Em cultivos conduzidos no solo e também em mudas ou plantas jovens, os problemas com fungus gnats são maiores. O termo fungus gnats é utilizado porque esse inseto se alimenta de material vegetal presente no substrato de produção.

Os adultos causam pouco dano direto nas plantas, mas, se a população é alta, causam incômodos aos trabalhadores na casa de vegetação, com a inalação de moscas ou com a entrada das mesmas nos olhos. Adultos podem depositar fezes sobre as plantas e ficar presos na superfície molhada das folhas, reduzindo o valor estético em ornamentais. As larvas se constituem em verdadeiras pragas porque se alimentam das raízes de muitas plantas em casas de vegetação, principalmente em mudas e plantas jovens, causando injúrias por meio da poda das raízes. Quando as populações são altas, além do ataque às raízes, promovem a formação de galerias nas raízes e caules das plantas. Raízes danificadas tornam as plantas mais suscetíveis ao ataque de fitopatógenos, como *Pythium* (Pringsheim), *Fusarium* (Link ex Grey) e *Botrytis*. O dano direto, ocasionado pelo ataque das larvas nas raízes, é facilmente confundido com a ocorrência de doenças como as fusarioses. Os danos se tornam aparentes quando as plantas ficam amareladas, aparecem atrofiadas ou murchas durante o dia.

Esses insetos, tradicionalmente, são controlados com inseticidas. Entretanto, a seleção de populações resistentes tem tornado o controle progressivamente mais difícil (BARTLETT; KEIL, 1997). Contudo, vários inimigos naturais estão associados a essas moscas, como ácaros predadores, *Hypoaspis miles* (= *Stratiolaelaps scimitus*) (Berlese), *Hypoaspis aculeifer* (Canestrini), *Macrocheles robustulus* (Berlese) e nematoides entomopatogênicos como *Steinernema feltiae* (Filipjev) (BUENO, 2008). No Brasil, o ácaro predador *Stratiolaelaps scimitus* é usado para controle de *Bradysia matogrossensis* (Lane) em cultivos de azaleia, antúrio, cogumelos, em mudas de citros e de várias ornamentais em casas de vegetação (BUENO; POLETTI, 2009). É recomendado que a liberação inundativa desse ácaro predador seja realizada logo após o plantio das mudas, quando a infestação de fungus gnats ainda é baixa. Essa técnica garantirá o sucesso do uso do controle biológico em vários cultivos na casa de vegetação. Na Europa é comercializado, em larga escala, desde 1990 para o controle de moscas da Família Sciaridae. Também o nematoide *Steinernema feltiae* é usado em larga escala, desde 1984, na Europa, norte e sul da África, Américas do Norte e Latina, Austrália e Nova Zelândia (LENTEREN, 2012).

## Lepidópteros

Vários lepidópteros são relatados em cultivos em casas de vegetação. Entretanto, a espécie *Tuta absoluta* (Meyrick) é, atualmente, a mais importante praga em cultivos protegidos de tomate. A traça-do-tomateiro, *Tuta absoluta*, é um lepidóptero-praga, originário da América do Sul, mas que em 2006 invadiu a Europa por meio da Espanha e agora pode ser encontrada infestando cultivos de tomate na Europa, norte da África e Ásia (GUEDES; PICANÇO, 2012).

A larva jovem penetra nas folhas formando minas e se alimenta somente do mesófilo foliar, deixando a epiderme intacta. A larva, nos

dois últimos instares, aumenta consideravelmente de tamanho e a sua capacidade de ingestão e mobilidade. É nessa etapa de desenvolvimento que adquire maior capacidade de deslocamento. Esse é o período no qual pode ocasionar os danos econômicos mais sérios para o cultivo de tomate, podendo inclusive penetrar nos brotos e também nos frutos. As galerias são irregulares e podem, mais tarde, se tornarem necróticas; os frutos podem ser atacados tão logo sejam formados e as galerias podem ser invadidas por patógenos secundários. Em altas infestações, pode destruir até 90% da área foliar das plantas, além de danificar os ramos e frutos.

Esse lepidóptero prefere plantas de tomate. Entretanto, pode ser encontrado em outras solanáceas cultivadas, como berinjela ou batata. Também pode ser encontrado em plantas invasoras pertencentes à Família Solanaceae, como *Solanum nigrum* L. e *Datura stramonium* L. (PEREYRA; SANCHÉZ, 2006).

O controle químico, com aplicações sucessivas de inseticidas, é a principal tática de controle dessa praga no cultivo do tomateiro. Entretanto, na maioria das vezes, não se tem obtido a eficácia desejada, devido à seleção de populações resistentes aos princípios ativos empregados e à eliminação de populações de inimigos naturais da traça-do-tomateiro. O controle biológico é uma tática que tem prevalecido.

No Brasil, existem relatos quanto ao uso do parasitoide de ovos, *Trichogramma pretiosum* (Riley), entretanto, com resultados pouco promissores, principalmente, em casas de vegetação (PARRA; CONSOLI, 2009). Bueno et al. (2013) mencionam o potencial dos percevejos mirídeos predadores *Campyloneuropsis infumatus* (Carvalho), *Engytatus varians* (Distant) e *Macrolophus basicornis* (Stal) como agentes de controle de *Tuta absoluta*. Na Argentina, estudos estão sendo conduzidos com os parasitoides de larva, *Pseudapanteles dignus* (Muesebeck) e *Dineulophus phthorimaeae*

De Santis (LUNA et al., 2007; SÁNCHEZ et al., 2009) e na Colômbia com *Apanteles gelechiivoris* Marsh (BAJONERO et al., 2008), colocando-os como candidatos promissores ao controle biológico de *Tuta absoluta* por conservação e ou liberação inoculativa sazonal. Na Espanha, se comercializa os percevejos mirideos predadores *Nesidiocoris tenuis* Reuter e *Macrolophus pygmaeus* (Rambur), como agentes de controle (CALVO; BELDA, 2010). Esses predadores são bastante efetivos, sendo que *Macrolophus pygmaeus* e *Nesidiocoris tenuis*, são utilizados na Europa, norte da África e Ásia, desde 1994 e 2003, respectivamente, em grande escala. O percevejo nabideo predador *Nabis pseudoferus ibericus* Remane é utilizado na Europa desde 2009, em pequena escala (LENTEREN, 2012), também para o controle de *Tuta absoluta*.

Dentre os agentes entomopatogênicos os produtos à base de bactéria, como *Bacillus thuringiensis* Berliner (BT), são os mais comumente usados para o controle de muitas lagartas-pragas em casas de vegetação. Existem no mercado inúmeros produtos disponíveis com base em diferentes subespécies de *Bacillus thuringiensis*: *kurstaki* e *aizawai* (Copping 2009). Alguns produtos para as lagartas foram desenvolvidos baseados em vírus (*Baculovirus* (SeNPV), como Virex, Spexit e Spod-X para o controle de *Spodoptera exigua* (Hübner). Dois outros produtos desenvolvidos foram Helicovex (HaNPV) contra *Helicoverpa armigera* (Hübner) e Littovir com base em *Spodoptera littoralis* (Boisduval) NPV para o controle de *S. littoralis*.

Nematoides estão entre os agentes entomopatogênicos cada vez mais estudados para o controle de lagartas, particularmente quando os estádios mais avançados estão presentes nos cultivos, pois são menos susceptíveis aos produtos à base de BT e de vírus.

## Mosca-branca

As moscas-brancas estão entre as mais severas pragas em cultivos de ornamentais e hortaliças em casas de vegetação. Duas espécies se destacam como as de maior importância econômica: *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) e *Bemisia tabaci* (Gennadius). A última espécie apresenta um complexo de biótipos, sendo o mais conhecido o biótipo B. *Bemisia tabaci* ocorre, principalmente, em áreas tropicais e subtropicais. *Bemisia tabaci* e *Trialeurodes vaporariorum* ocorrem em zonas temperadas e é estreitamente relacionada com a presença de cultivos em casas de vegetação. São espécies com distribuição cosmopolita e polífagas. Apresentam distribuição agregada nos cultivos, com concentração nas áreas de temperaturas mais amenas ou naquelas em que o crescimento das plantas é maior. Com temperaturas favoráveis, seja devido às condições climáticas da área, ou às condições no interior da casa de vegetação, a mosca-branca pode chegar a ter mais de 12 gerações ao ano, o que permite atingir elevadas populações (LENTEREN; MARTIN, 1999).

As moscas-brancas causam danos diretos nos cultivos devido à sucção de grande quantidade de seiva, provocando a debilidade da planta. Excretam o excesso de açúcares, formando uma mela, no qual se desenvolvem fungos, ocasionando o recobrimento da área afetada, que é conhecido como fumagina. A fumagina, além de reduzir a superfície fotossintética da planta, mancha os frutos e a planta, deteriorando a sua qualidade. Devido à alimentação no floema, essas espécies são vetores de viroses, como do grupo geminivírus, especialmente em plantios de tomate. Os danos estéticos, devido à presença da fumagina, são muito importantes quando esta mancha negra ocorre nas partes que serão comercializadas, como por exemplo, em pimentão e tomate, ou na ornamental poinsetia. O biótipo B é responsável pelo aparecimento da coloração prateada nas folhas de abóbora e pela maturação irregular dos frutos

de tomate. O principal problema com *Bemisia tabaci*, em produção intensiva em casas de vegetação, advém da transmissão de muitos vírus incluindo *Cucurbit yellow stunting disorder virus* (CYSDV) e *Cucumber vein yellowing virus* (CVYV) em cultivos de pepino, e *Tomato yellow leaf curl virus* em tomate.

Os parasitoides mais comuns comercializados e utilizados como agentes de controle biológico são *Encarsia formosa* Gahan, *Eretmocerus mundus* (Mercet) e *Eretmocerus eremicus* Rose & Zolnerowich. Dentre os predadores da mosca-branca que estão disponíveis comercialmente destacam-se os percevejos mirídeos *Macrolophus pygmaeus* e *Nesidiocoris tenuis*, e também o ácaro predador *Amblyseius swirskii*.

O parasitoide *Encarsia formosa* é o mais utilizado para o controle de mosca-branca nos últimos 30 anos (LEENTEREN, 2010; LENTEREN; MARTIN, 1999) e embora possa parasitar muitas espécies de mosca-branca, na prática é mais indicado para o controle de *Trialeurodes vaporariorum*. Contudo, *Eretmocerus mundus* é indicado para *Bemisia tabaci*, biótipo B. O parasitoide *E. formosa* é comercializado em larga escala desde 1926 na Europa, norte e sul da África, América do Norte e América Latina, Ásia, Austrália e Nova Zelândia. *Eretmocerus eremicus* é usado no norte e sul da África, América do Norte e América Latina e Ásia, desde 1995, e *Eretmocerus mundus* na Europa, norte e sul da África, América do Norte e Latina e Ásia desde 2001, ambos em uso em larga escala contra mosca-branca (LEENTEREN, 2012).

Fungos entomopatogênicos são usados para o controle da mosca-branca em casa de vegetação (*Trialeurodes vaporariorum*) e para a mosca-branca do fumo (*Bemisia tabaci*), tanto em cultivos de hortaliças, como de ornamentais. Esses fungos são *Lecanicillium muscarium* (Petch) Zare et Gams (= *Verticillium lecanii*), *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin e *Isaria fumosorosea* Wize (= *Peaci-*

*Iomyces fumosoroseus*). Nematoides entomopatogênicos também foram estudados para o controle da mosca branca e os resultados indicaram algum controle (CUTHBERTSON et al., 2008). Entretanto, não existe uso comercial até o momento.

## **Mosca-minadora**

As moscas-minadoras são pequenas moscas da família Agromyzidae cujas larvas vivem entre as duas epidermes das folhas das plantas, criando as chamadas “minas”, as quais têm se tornado sérias pragas em hortaliças e ornamentais em cultivos protegidos. Espécies pertencentes ao gênero *Liriomyza* são as mais polífagas, e algumas têm uma forte propensão para rápida adaptação e exploração da planta hospedeira. Entre elas destaca-se *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard), *Liriomyza sativae* Blanchard, *Liriomyza trifolii* (Burgess) e *Liriomyza bryoniae* (Kaltenbach) as quais foram relatadas invadindo todas as regiões zoogeográficas do mundo, causando sérios prejuízos e ampliando cada vez mais o número de plantas hospedeiras, entre aquelas cultivadas e espontâneas (ONILLON, 1999).

Problemas causados por moscas-minadoras, em casas de vegetação, têm se expandido em muitas regiões de hortaliças e ornamentais, como consequência do grande volume de inseticidas aplicados. Essas aplicações selecionam populações com resistência aos produtos e provoca a morte do complexo de inimigos naturais que podem invadir as casas de vegetação e contribuir para o controle natural das moscas-minadoras.

Quando uma fêmea adulta da mosca-minadora se alimenta ou coloca ovos, ela faz um orifício com a ponta do ovipositor, usualmente na superfície superior da folha. Nesses casos, os orifícios ficam conhecidos como “pontos de alimentação” e ou “pontos de ovipo-

sição”, sendo que os de alimentação são arredondados e visíveis a olho nu, e os de oviposição são ovais e raramente vistos ou detectados. Quando a larva sai do ovo ela penetra no mesófilo foliar e inicia a sua alimentação causando extensos danos devido à formação das minas. Existem poucos dados sobre a relação entre o número de minas/folha e a perda ocasionada na produção. Wyatt et al. (1984) reportaram que em cultivos de tomate, a perda na produção foi correlacionada ao número de 30 minas/folha e levando a 10% de perda, e a 60 minas/folha a 20% de perda na produção.

Uma alta quantidade de folhas minadas causa um decréscimo na atividade fotossintética que pode levar a dessecação e queda prematura das folhas e dano estético em ornamentais folhosas. A relação entre o tamanho da população, dano na folha e redução na produção varia de acordo com a estação do ano, método de cultivo e a susceptibilidade da planta hospedeira. Além disto, a susceptibilidade da planta pode variar consideravelmente de uma cultivar para outra. No Brasil, as plantas mais comumente atacadas estão: alface americana, gérbera, tomate e melão (CARVALHO et al., 2009). *Liriomyza trifolii* e *Liriomyza huidobrensis* são espécies com populações altamente resistentes a inseticidas e estão associadas a muitas plantas hospedeiras entre hortaliças e ornamentais cultivadas em casas de vegetação.

A ausência de uso de inseticidas no interior das casas de vegetação e um ambiente diversificado ao redor das mesmas pode promover um eficiente controle natural das populações das moscas-minadoras, principalmente por parasitoides (MURPHY; LA SALLE, 1999). Os parasitoides de moscas-minadoras, em suas áreas de distribuição original, são ativos na maior parte do ano e capazes de intervir naturalmente no início das estações de plantio em cultivos infestados por várias espécies de *Liriomyza* (ONILLON, 1999). Entre os mais importantes parasitoides das moscas-minadoras em casas de vegetação estão *Dacnusa sibirica* Telenga, *Diglyphus isaea*

(Walker) e *Opius pallipes* Wesmael. No Brasil, foram encontrados também *Diglyphus begini* (Ashmead), *Diglyphus intermedius* (Girault) e espécies de *Chrysocharis* (CARVALHO et al., 2011), sendo a primeira espécie parasitando *Lyriomyza* spp. em cultivos protegidos de alface americana, tomate e crisântemo.

*Dacnusa sibirica* e *Diglyphus isaea* são espécies comercializadas em grande escala como agentes de controle biológico de moscas-minadoras em casas de vegetação na Europa, norte da África, América do Norte, América Latina e Ásia, desde 1981 e 1984, respectivamente (LENTEREN, 2012). A liberação de *Dacnusa sibirica* é recomendada para situações onde tanto a infestação de moscas-minadoras como a temperatura são relativamente baixas. *Diglyphus isaea* é usada em altas densidades de moscas-minadoras e a temperaturas mais altas.

## Pulgões

Os pulgões ou afídeos estão entre as mais sérias pragas em cultivos em casas de vegetação. São estrategistas “r”, isto é, são bem adaptados para explorar um habitat novo e temporário por meio do rápido aumento das populações. A infestação inicial em um cultivo geralmente acontece por meio de um pequeno número de focos isolados. Entretanto, como se reproduzem rapidamente nesses lugares, formam densas populações com sobreposição de gerações e começam a colonizar as plantas vizinhas. Dentre as principais espécies de pulgões-praga em cultivos em casas de vegetação destacam-se as espécies *Myzus persicae* (Sulzer), *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) e *Aulacorthum solani* (Kaltenbach), os quais infestam, principalmente, Solanáceas, e *Aphis gossypii* Glover, em Cucurbitácea, mas podem atacar outras plantas, inclusive ornamentais. Além do dano direto, devido à sucção de seiva, são vetores de viroses em plantas. Em adição, causam o aparecimento

de fumagina, o que reduz a fotossíntese e deprecia o valor estético das plantas ornamentais.

Em condições de casas de vegetação, as populações de pulgões são capazes de crescer exponencialmente por um período considerável. Isso significa que o número de afídeos cresce por meio de uma proporção fixa a cada dia: comumente 0,2 ou 0,3 fêmeas por fêmeas por dia e acima de 0,5 para *Aphis gossypii* (RABASSE; STEENIS, 1999; STEENIS; EL-KHAWASS, 1995).

Pulgões são, portanto, problemas persistentes em cultivos em casas de vegetação, e inimigos naturais é a primeira linha de defesa. Entretanto, o importante é encontrar a espécie correta de inimigo natural para a espécie de pulgão-alvo. Como inimigos naturais de pulgões destacam-se, dentre os parasitoides, *Aphidius colemani* Viereck, *Aphidius ervi* Haliday, *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson), *Praon volucre* (Haliday). Entre os predadores estão as joaninhas, *Hypodamia convergens* (Guerin-Meneville), *Coccinella septempunctata* L., *Harmonia axyridis* (Pallas), o díptero *Aphidoletes aphidimyza* (Rondani) e o sirfideo predador *Episyrphus balteatus* De-Geer. Muitos inimigos naturais são utilizados em cultivos protegidos para o controle biológico de pulgões, levando-se em consideração a preferência por afídeo hospedeiro (Tabela 2) (LENTEREN, 2012). Algumas vezes é necessário o uso isolado de um predador ou em conjunto com um parasitoide, e *Aphidoletes aphidimyza* é um predador voraz e eficiente, atacando todas as espécies de pulgões.

Um produto à base de fungo (*Lecanicillium longisporum* (Zimmerman) Zare et Gams) foi desenvolvido para o controle microbiano de pulgões. Entretanto, este produto foi retirado do mercado em 2010. Os outros fungos mencionados acima para a mosca branca podem ter efeito para os pulgões, mas geralmente não é suficiente para um bom controle desses insetos.

**Tabela 2.** Principais parasitoides e predadores de pulgões comercializados (modificado de Lenteren (2012)).

Inimigo Natural	Região de Uso	Alvo	Ano do 1º Uso	*Valor no Mercado
<i>Aphidius colemani</i>	Europa, norte e sul da África, América do Norte, Ásia, Austrália e Nova Zelândia	Pulgões ( <i>Aphis gossypii</i> )	1991	Grande escala
<i>Aphidius ervi</i>	Europa, norte da África, América do Norte e Latina e Ásia	Pulgões ( <i>Macrosiphum euphorbiae</i> , <i>Aulacorthum solani</i> )	1996	Grande escala
<i>Aphidoletes aphidimyza</i>	Europa, norte e sul da África, América do Norte e Ásia	Pulgões	1989	Grande escala
<i>Harmonia axyridis</i>	Europa (uso de 1995-2005), França (usado desde 1995), América do Norte e Ásia	Pulgões	1990	Grande escala
<i>Aphidius matricariae</i>	Europa e América do Norte	Pulgões ( <i>Myzus persicae</i> )	1980	Média escala
<i>Episyrphus balteatus</i>	Europa	Pulgões	1990	Média escala
<i>Praon volucre</i>	Europa	Pulgões	1990	Pequena escala
<i>Lysiphlebus testaceipes</i>	Europa	Pulgões	1990	Pequena escala

\*Pequena escala=1000 a pouco + de 1000 indivíduos vendidos/semana; Média escala= 10.000 a 100.000 indivíduos vendidos/semana; Grande escala=100.000 a milhões de indivíduos vendidos/semana.

## Tripes

Os tripes são insetos que pertencem à ordem Thysanoptera, sendo que as espécies mais prejudiciais em casas de vegetação são *Frankliniella occidentalis* (Pergande), *Thrips tabaci* Lindeman e *Thrips palmi* Karny, sendo a primeira, a espécie mais importante. Caracterizam-se por serem polípagos e por atacarem tanto as flores como o tecido foliar. Além do dano direto devido à alimentação, o que causa redução da área fotossintética e especialmente desordens no crescimento ou no dano na qualidade das plantas ornamentais, vários tripes-praga são importantes vetores de vírus, sendo os mais importantes os Tospovírus (INSV e TSWV). Os adultos do tripe *Frankliniella occidentalis* são polenófagos e agregam-se nas flores para alimentação e cópula, e em alguns cultivos como gérbera, o vírus é persistentemente transmitido pelos adultos.

Os danos em cultivos de ornamentais podem tomar várias formas, sendo o mais sério os danos às flores. Os botões florais infestados podem não abrir, e em rosas é um problema bastante sério. Em ornamentais é inaceitável a distorção das folhas. Em crisântemo e gérbera a alimentação resulta em pétalas distorcidas, descoloração e estrias extensivas. Em gerânio ocorre deformação nas folhas jovens, enrolamento e áreas esbranquiçadas sobre a superfície superior da folha. Em plantas jovens de poinsetia, causam distorção no desenvolvimento das folhas (BUENO, 2008). Entre as hortaliças, em casas de vegetação, pimentão, pepino, morango e tomate são os principais cultivos atacados.

Como para a maioria das pragas em cultivos protegidos, também a lista de inimigos naturais de tripes é longa, e compreende predadores, parasitoides e agentes entomopatogênicos. Os predadores são os melhores candidatos para o controle de tripes, e dentre as principais espécies destacam-se percevejos antocorídeos: *Orius insidiosus* (Say) e *Orius laevigatus* (Fieber) (Tabela 3) e os ácaros

predadores, como *Amblyseius swirskii*. Espécies de *Orius* são predadores vorazes e podem aumentar rapidamente seu número em resposta ao pico populacional da presa favorita, ou seja, os tripes.

Os fungos *Beauveira bassiana*, *Lecanicillium muscarium* e *Metarhizium anisopliae* são usados contra tripes, principalmente para o controle de *Frankliniella occidentalis*. Entretanto, o uso contra outras espécies de tripes, como *Echinothrips americanus* (Morgan) é limitado e sem grande sucesso. Nematoides entomopatogênicos são usados para o controle de tripes em ornamentais, principalmente em crisântemo.

**Tabela 3:** Espécies de *Orius* comercializadas como agentes de controle biológico de tripes em cultivos em casas de vegetação (modificado de Lenteren (2012)).

Espécies de <i>Orius</i>	Região de Uso	Alvo	Ano do 1º Uso	*Valor do mercado
<i>Orius albidipennis</i>	Europa	Tripes	1993	Pequena escala
<i>Orius armatus</i>	Austrália	Tripes	1990	Pequena escala
<i>Orius insidiosus</i>	Europa	Tripes	1991-2000	Grande escala
<i>Orius insidiosus</i>	América do Norte, América Latina	Tripes	1985	Grande escala
<i>Orius laevigatus</i>	Europa, norte da África, Ásia	Tripes	1993	Grande escala
<i>Orius majusculus</i>	Europa	Tripes	1993	Media escala
<i>Orius minutus</i>	Europa	Tripes	1993	Pequena escala
<i>Orius strigicollis</i>	Ásia	Tripes	2000	Media escala
<i>Orius tristicolor</i>	Europa	Tripes	1995-2000	Pequena escala

\*Pequena escala=1000 a pouco + de 1000 indivíduos vendidos/semana; Média escala= 10.000 a 100.000 indivíduos vendidos/semana; Grande escala=100.000 a milhões de indivíduos vendidos/semana.

## Doenças e seus agentes de biocontrole em casa de vegetação

O cultivo em casa de vegetação, por possuir característica especial, apresenta ambiente que pode ser favorável para diversas doenças, inclusive algumas de menor importância no cultivo de campo. Devido aos custos da estrutura da casa de vegetação, o cultivo é intenso, com plantas em todos os estádios de desenvolvimento, alta densidade de plantas, tratos culturais praticamente diários e adequada fertilização, entre outras características (PAULITZ; BELANGER, 2001). Aliados a todos esses aspectos, há necessidade de se considerar que a qualidade das mudas que entram na casa de vegetação deve apresentar excelentes condições de sanidade, o que nem sempre ocorre. Assim, cria-se um ambiente único, com a manutenção de temperatura e umidade adequadas para diversos fitopatógenos. Por exemplo, as doenças da parte aérea como os oídios e o mofo cinzento (*Botrytis cinerea* Pers. ex Fr.) são beneficiadas pelas condições de umidade e temperatura nesse ambiente (PAULITZ; BELANGER, 2001). O mesmo ocorre com os patógenos habitantes do solo, como diversas espécies de *Pythium*. Por outro lado, as condições de umidade, temperatura, proteção contra dessecação e luz solar criam um ambiente também adequado aos principais agentes de biocontrole de doenças de plantas, como *Trichoderma* (Persoon) spp., *Clonostachys rosea* (Link: Fr.) Schroers, Samuels, Seifert & W. Gams, *Bacillus subtilis* (Cohn, 1872) e *Bacillus* spp. (PAULITZ; BELANGER, 2001).

A utilização de agentes de controle biológico de doenças de plantas em cultivo protegido, apesar do considerável aumento verificado nos últimos anos, ainda é reduzido em comparação com o controle biológico de pragas. No Brasil, esse fato pode ser observado pelo número de produtos contendo agentes de controle biológico registrado para cada tipo de problema fitossanitário (BETTIOL, 2011).

Entretanto, para muitas doenças a eficiência é semelhante aos fungicidas. Bettiol et al. (2012) apresentam uma extensa lista dos produtos biológicos registrados para o controle de doenças de plantas disponíveis no mercado, tanto para uso em campo, quanto em casa de vegetação.

Os mecanismos de ação dos agentes de controle biológico de doenças de plantas são distintos daqueles de controle de pragas. Antibiose, competição, parasitismo, predação e indução de resistência do hospedeiro são os principais mecanismos de ação das interações entre microrganismos fitopatogênicos e antagonistas. Com exceção do último mecanismo que age sobre o hospedeiro, todos os demais agem diretamente sobre o patógeno. Esses mecanismos são amplamente discutidos em Cook e Baker (1983).

## **Oídios**

Oídios são doenças de plantas causadas por fungos altamente evoluídos, sendo todos parasitas obrigatórios. Os agentes causais de oídios se situam entre os principais fitopatógenos, ocorrendo em todas as regiões do globo e na maioria das espécies cultivadas (STADNIK; RIVERA, 2001), sendo de grande importância em cultivo protegido, devido às adequadas condições ambientais para o desenvolvimento desse fungo. Esses fitopatógenos tem ampla distribuição na natureza, ocorrem em regiões úmidas e frias, mas são favorecidos por ambientes secos e quentes. Os sintomas são facilmente identificados e sempre se manifestam na forma de eflorescência ou bolor pulverulento, de coloração branca ou levemente cinza. A eflorescência é formada por micélio, conidióforos e conídios do patógeno, pode ser encontrada em diversos órgãos vegetais, como meristemas, ramos jovens, flores, frutos em formação e, principalmente, folhas (BEDENDO, 1995). A produção de esporos é abundante no tecido do hospedeiro.

Em cultivo protegido é muito comum a ocorrência de oídio em ornamentais, hortaliças, frutas e em mudas de espécies florestais. Na Tabela 4 são apresentados os principais patossistemas onde esse grupo de patógeno ocorre.

O controle biológico de oídios é realizado principalmente com o fungo parasita *Ampelomyces quisqualis* Ces. O agente de biocontrole é um hiperparasita de agentes causais de oídio e pode ser encontrado facilmente associado ao patógeno, colonizam hifa e conidióforos de patógenos da ordem Erysiphales, Mucorales e Perisporiales, formando picnídios. A efetividade de *Ampelomyces quisqualis* em casa de vegetação ou no campo é maior em condições de umidade elevada (PAULITZ; BELANGER, 2001). Existe no mercado um produto formulado em grãos, sendo sua concentração de no mínimo  $5 \times 10^{12}$  ufc/kg. A vida de prateleira do produto é de 10 meses (AMPELOMYCES..., 2009; BIOFUNGICIDES..., 2009), devendo ser aplicado por meio de pulverização (BETTIOL et al., 2012). Outra possibilidade é estimular o controle biológico natural com a aplicação preventiva de leite para o controle da doença. Além de estimular os microrganismos do filoplano a se multiplicarem, o leite forma uma barreira natural na folha (BETTIOL et al., 1999). Mais recentemente foi registrado no Brasil um produto à base de *Bacillus subtilis* e outro à base de *Bacillus pumilus* Meyer e Gottheil que são eficientes no controle de oídio (BETTIOL et al., 2012).

**Tabela 4.** Ocorrência de oídios em plantas cultivadas em casa de vegetação.

Hospedeiro	Patógeno
Tomate ( <i>Lycopersicon esculentum</i> L)	<i>Leveillula taurica</i> ((Lév.) G. Arnaud)
Tomate ( <i>Lycopersicon esculentum</i> )	<i>Oidium lycopersici</i> (Cooke & Massee)
Tomate ( <i>Lycopersicon esculentum</i> )	<i>Erysiphe polygoni</i> ((Vaňha) Weltzien)
Pimentão ( <i>Capsicum annuum</i> L)	<i>Leveillula taurica</i> anamorfo: <i>Oidiopsis taurica</i>

Continua...

**Tabela 4.** Ocorrência de oídios em plantas cultivadas em casa de vegetação.

Hospedeiro	Patógeno
Abóbora ( <i>Cucurbita pepo</i> L)	<i>Podosphaera fuliginea</i> (Schltld.) Pollacci)
Pepino ( <i>Cucumis sativus</i> L)	<i>Podosphaera fuliginea</i>
Pimenta ornamental ( <i>C. annuum</i> )	<i>Leveilulla taurica</i> anamorfo: <i>Oidiopsis taurica</i>
Rosa ( <i>Rosa</i> L spp.)	<i>Podosphaera pannosa</i> ((Wallr.) de Bary)
<i>Gypsophila paniculata</i> L.	<i>Erysiphe buhrii</i> (U. Braun) anamorfo: <i>Oidium dianthi</i>
Lisianthus ( <i>Eustoma grandiflorum</i> L)	<i>Oidiopsis haplophylli</i> (Rulamort) (syn. <i>Oidiopsis sicula</i> )
Impatiens ( <i>Impatiens balsamina</i> L)	<i>Oidiopsis haplophylli</i> (syn. <i>Oidiopsis sicula</i> )
Eucalipto ( <i>Eucalyptus</i> (L'Hér.) spp.)	<i>Erysiphe cichoracearum</i> D.C.
Morango ( <i>Fragaria x ananassa</i> ((Weston) Duchesne)	<i>Sphaerotheca macularis</i> ((Wallr.) U. Braun & S. Takam)

### ***Botrytis cinerea***

O agente causal do mofo cinzento é um patógeno comum em cultivo em casa de vegetação e ocorre em um grande número de culturas nessas condições (tomate, pimentão, morango, pepino, rosa, violeta, ciclâmen, lírio, gerânio, gérbera, orquídeas e outras plantas ornamentais, eucaliptos em viveiros de produção de mudas e outras culturas). O mofo cinzento causa prejuízos intensos, sendo seu controle, principalmente, baseado no uso de fungicidas. Entretanto, é um fungo que facilmente são selecionados isolados resistentes às diversas moléculas.

O controle biológico dessa doença é realizado em diversas condições, sendo facilitado pelas condições ambientes o cultivo em casa de vegetação. Os principais agentes recomendados para o controle do mofo cinzento em casa de vegetação são: *Clonostachys rosea*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus velezensis* sp.nov., *Streptomyces lydicus* (Waksman & Henrici), *Trichoderma harzianum* (Rifai), *Trichoderma*

*atroviride* (Rifai), *Trichoderma viride* (Pers.), *Gliocladium catenulatum* (J.C. Gilman & E.V. Abbott), *Pythium oligandrum* (Dreschler) e *Ulocladium oudemansii* (EG Simmons) (BETTIOL et al., 2012). Entretanto, é muito importante para a eficiência desses agentes de biocontrole a integração com técnicas de sanitização para a redução do inóculo inicial e também para reduzir a quantidade de tecidos mortos onde o patógeno se multiplica rapidamente e produz uma grande quantidade de inóculo.

### **Patógenos habitantes do solo (*Rhizoctonia*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Sclerotinia*, *Sclerotium* e *Fusarium*)**

*Rhizoctonia solani* (J.G.Kühn), *Sclerotium rolfii* (Sacc.), *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, *Fusarium oxysporum* (Schlecht. emend. Snyder & Hansen), *Pythium* (Pringsheim) e *Phytophthora* (de Bary) são os principais agentes causais de tombamento ou *damping-off* e podridão de colo e de raiz em condições de casa de vegetação em todo o mundo. São patógenos que não apresentam especificidade de hospedeiro e atacam praticamente todas as plantas em cultivo protegido, causando severas perdas. Normalmente atacam tecidos jovens do hospedeiro e são favorecidos por condições de alta umidade do solo ou do substrato, condições estas, frequentemente, observadas em cultivo em casa de vegetação. *Pythium* também é um importante patógeno de cultivos de sistemas hidropônicos. *Fusarium* é o principal agente causal de doenças vasculares em cultivo de numerosas culturas em condições de casa de vegetação, sendo que a murcha das plantas é o principal sintoma.

O controle biológico desse grupo de patógenos é realizado tanto por meio de substrato ou solo supressivo, quanto pela introdução massal de agentes de biocontrole no sistema de cultivo. Os bioagentes são principalmente introduzidos no substrato ou no solo

de cultivo, tanto diretamente, quanto pela água de irrigação. Além disso, são realizadas aplicações durante as primeiras fases do ciclo do hospedeiro para proteção contra os patógenos. Possivelmente, o maior número de produtos à base de agentes de biocontrole disponíveis no mercado seja para controlar esse grupo de patógenos. Destacam-se entre os bioagentes as seguintes espécies do gênero *Trichoderma*: *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma atroviride*, *Trichoderma asperelum* (Samuels, Lieckf. & Nirenberg), *Trichoderma virens* e *Trichoderma viridae*. Entretanto, outros bioagentes são comercializados: *Gliocladium* spp., *Gliocladium catenulatum*, *Coniothyrium minitans* (W.A. Campb.) e *Bacillus subtilis*.

### **Modelo de integração de métodos de controle de pragas e doenças em plantas ornamentais (lírio e espatifilo) em casa de vegetação**

Um dos principais problemas da sustentabilidade agrícola refere-se ao controle de doenças, pragas e plantas invasoras. Diversas técnicas utilizadas para minimizar os danos ocasionados por esses problemas fitossanitários contaminam o ambiente ou causam alterações que comprometem a sustentabilidade do agroecossistema. Para reverter essa situação, as complexas interações biológicas são fundamentais para o sucesso do controle, devendo ser analisadas de modo holístico e consideradas em longo, e não em curto prazo. Assim sendo, há a necessidade de um amplo conhecimento da ecologia de sistemas (ATKINSON; MCKINLAY, 1995). O resgate dos princípios e mecanismos que operam nos sistemas da natureza pode auxiliar na obtenção de sistemas agrícolas mais sustentáveis (GLIESSMAN, 2005 MANUAL..., 1996; REIJNTJES et al., 1992).

Entretanto, nem sempre o uso de técnicas biocompatíveis isoladamente é suficiente para a obtenção de um controle adequado, mas é fundamental para o manejo integrado de pragas e doenças. A integração do controle biológico com outras medidas de manejo é bastante discutida, especialmente no contexto do manejo ecológico de doenças de plantas. Esse manejo é conceituado como um “conjunto de estratégias e de práticas empregadas com base nos princípios de controle de doenças e pragas de plantas, com o objetivo de reduzir as perdas em níveis toleráveis, sem interferir, acentuatadamente, no ambiente” (MIZUBUTI; MAFFIA, 2001).

Enfatiza-se o emprego integrado de táticas e métodos, sejam eles culturais, mecânicos, físicos, legislativos, biológicos, de resistência genética, entre outros, com vista à prevenção e à redução da intensidade das doenças e pragas. A associação do controle biológico com outras estratégias de controle é altamente desejável. A integração de métodos de manejo para mais de um patógeno ou pragas ao mesmo tempo aumenta as chances de sucesso de controle e contribui para a redução de custos. A integração de métodos fitossanitários é a principal forma de reduzir o uso de agrotóxicos em sistemas de produção, como tem se buscado no manejo integrado de pragas e na produção integrada de várias culturas. Entretanto, o sucesso só será possível após o conhecimento das possíveis interações entre plantas, fitófagos e patógenos, e os efeitos sobre a eficiência dos métodos considerados (MORANDI; BETTIOL, 2008). A integração é indispensável, pois muitas vezes o uso de um fungicida para o controle de doenças causa a eliminação de um fungo entomopatogênico importante para o controle de pragas. O mesmo pode ocorrer com o uso de um inseticida ou acaricida.

Um modelo de integração foi desenvolvido em uma propriedade especializada no cultivo de lírio, localizada em Holambra/SP, com histórico de utilização intensiva de fungicidas, inseticidas e acaricidas. Os problemas fitossanitários no lírio, cultura de alto valor

agregado, são limitantes para o cultivo. Dentre esses se destacam as doenças causadas por *Botrytis elliptica* (Berk. (Cooke)), *Phytophthora*, *Fusarium*, *Sclerotinia*, *Penicillium*, *Rhizoctonia* e *Pythium* e as pragas como pulgões, fungus gnatus e tripes, problemas típicos de cultivo em casa de vegetação. Além disso, lesmas, caramujos, camundongos e pássaros são problemas importantes. Para resolver esses problemas lançava-se mão de mais de 30 marcas comerciais de produtos fitossanitários, com um custo de R\$ 10,00/m<sup>2</sup>/ano, em uma área cultivada de 13.500 m<sup>2</sup>. Entretanto, para a realidade da propriedade citada, e para que os produtos funcionassem adequadamente, era necessário utilizar-se doses cada vez mais altas, produtos cada vez mais tóxicos (faixa vermelha e amarela) e os prejuízos por pragas e doenças eram crescentes. Além disso, os produtos não tinham registro para lírios. Finalmente, chegou-se à necessidade de se utilizar brometo de metila para manter o sistema em funcionamento. A partir desse ponto foi tomada a decisão de alterar o sistema de cultivo. A primeira medida foi deixar de utilizar produtos fitossanitários de faixa vermelha, sendo que esta fase demorou um ano, aproximadamente. Mais um ano foi gasto para substituir os produtos de faixa amarela. Finalmente, em mais um ano deixou-se de utilizar produtos fitossanitários na propriedade.

Paralelamente à substituição desses produtos foi alterada, também, a fertilização da cultura para permitir a sobrevivência dos agentes de biocontrole. Para se obter um controle integrado dos problemas, o uso dos produtos fitossanitários foi paulatinamente eliminado do sistema produtivo por meio da integração de métodos biocompatíveis para o controle de pragas e doenças, introduzindo-se uma diversidade de microrganismos. De modo geral, a produção atual baseia-se na colonização do substrato orgânico com *Trichoderma asperellum*, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* e microrganismos presentes em biofertilizante produzido aerobicamente, visando à eliminação do vácuo biológico e a colonização com

organismos benéficos para as plantas. Além disso, são realizadas pulverizações com *Trichoderma asperellum*, *Clonostachys rosea*, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* e *Bacillus thuringiensis israelensis*. Quando necessário, utiliza-se o óleo de nim, própolis, fosfito e piro-alho, entre outros. Associado a esses produtos e a uma fertilização equilibrada, controlada diariamente, um programa de sanitização, com a eliminação de plantas e partes de plantas doentes, é mantido em todas as casas de vegetação. Além disso, faz-se uso de armadilhas adesivas e controla-se a umidade relativa do ar dentro das mesmas. Todas as caixarias, vasos e demais utensílios utilizados em cada ciclo produtivo (30 a 90 dias, dependendo das variedades cultivadas) são desinfestados com substância à base de pinho.

Atualmente nenhum produto fitossanitário é utilizado, exceção para as flores destinadas ao mercado externo, cujos bulbos são tratados com Confidor® (imidacloprido e beta-ciflutrina) antes do plantio para o controle de pulgões, devido às barreiras fitossanitárias, pois o uso de agentes de biocontrole não elimina completamente esses insetos. O sucesso se deve não apenas à substituição dos produtos fitossanitários por algum produto biocompatível, mas sim pela alteração de todo o sistema de produção, pois a simples substituição de produtos pode levar aos mesmos desequilíbrios causados pelos produtos fitossanitários. A área cultivada atualmente é de 30.000 m<sup>2</sup> com custo aproximado para controle dos problemas fitossanitários em R\$ 3,00/m<sup>2</sup>/ano. Entretanto, o sistema ainda apresenta diversos problemas, sendo os principais relacionados com a qualidade dos produtos biológicos, registro destes produtos, fornecedores qualificados, controle de qualidade, e, principalmente, poucos agricultores com sistemas integrados para troca de informações.

Um sistema semelhante ao descrito foi adotado na cultura de *Spathiphyllum* (Schott in H.W.Schott & S.L.Endlicher) (espatifilo, bandeira-branca, lírio da paz) que tem *Cylindrocladium spathiphylli* (Schoulties, El-. Gholl & Alfieri), como principal causador da doença

que ataca essa planta, além de *Pythium*, *Phytophthora* e a praga fungus gnatus. A podridão de raiz e colo causada por *Cylindrocladium* é limitante para a cultura e os fungicidas disponíveis no mercado não são registrados para uso e não apresentam a eficiência desejada, devido aos problemas com a resistência do patógeno. Nesse exemplo é importante considerar ainda que o ciclo da cultura é de 18 meses, portanto, exposta por longo período aos problemas fitossanitários.

Assim, considerando esses fatos, foi decidido substituir os produtos fitossanitários por técnicas alternativas de controle. Nas casas de vegetação de produção foi estabelecido um programa de substituição de produtos fitossanitários por técnicas que não causem estresses às plantas. Inicialmente o substrato de crescimento desinfestado é enriquecido com biofertilizante produzido aerobicamente e com *Trichoderma*. Além disso, as plantas são pulverizadas semanalmente com agentes de biocontrole (*Trichoderma* spp., *Metarhizium anisopliae*, *Clonostachys rosea*, *Beauveria* sp., *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* e *Bacillus subtilis*) e extrato de peixe. Associado a isso foi feita uma estrutura na casa de vegetação para que os vasos permaneçam elevados em torno de 30 cm, com a finalidade de evitar a contaminação do substrato via solo. A sanitização também é rotina nas casas de vegetação e o uso de armadilhas adesivas é constante. Um problema da cultura era a ocorrência de ratos logo após o transplante que arrancavam as mudas do substrato. Nesse caso o uso de raticidas foi substituído integralmente pela permanência de um gato nas casas de vegetação, sendo que o gato tem tido todo o acompanhamento veterinário recomendado.

### **Manejo integrado de pragas**

O manejo integrado de pragas (MIP) pode ser usado em todos os principais cultivos de hortaliças em casas de vegetação. Na Ho-

landa, por exemplo, mais de 90% de todos os cultivos de tomate, pepino, pimentão e berinjela são realizados usando-se a estratégia do MIP (LENTEREN, 2000). Um exemplo de programa de MIP usado frequentemente é o cultivo do tomate na Europa. Este programa envolve 10 ou mais inimigos naturais e vários outros métodos de controle, como resistência de plantas, controle biológico de doenças, controle cultural e climático no interior da casa de vegetação (Tabela 5).

O programa de MIP pode parecer complicado, mas após um ano de experiência e suporte do serviço de extensão de uma biofábrica, que também fornece os agentes de controle biológico, os produtores estão aptos a conduzir esta estratégia de controle com sucesso. Um desenvolvimento recente que tem dado um forte suporte e estímulo para a aplicação de MIP em cultivos em casa de vegetação é o uso de mamangavas ou insetos polinizadores para a polinização, o que torna o uso do controle químico inviável no ambiente, uma vez que ele mata esses polinizadores. Exemplos detalhados de programas de MIP para hortaliças em casas de vegetação são apresentados por Albajes et al. (1999).

O desenvolvimento de programas de MIP para ornamentais é mais complicado do que para hortaliças. O primeiro problema é que são cultivadas muitas espécies e cultivares diferentes ao mesmo tempo numa mesma casa de vegetação. No oeste Europeu, por exemplo, mais de 100 espécies de flores de corte e 300 espécies de plantas em vasos são cultivadas, e para várias ornamentais mais de 100 cultivares são produzidas. Cada uma destas espécies/cultivares pode necessitar de programas de MIP específicos, e também estes seriam aplicados em áreas menores do que aquela usada para hortaliças, o que resultaria em custos elevados. Outros problemas para a implementação de MIP em ornamentais são: (1) mais produtos químicos estão disponíveis para ornamentais do que para hortaliças, e altos níveis de resíduos são aceitáveis, e (2) toda a planta

vai para o mercado, ao invés de somente os frutos, então nenhum dano é permitido. Entretanto, desde os anos 90, o uso de MIP está crescendo rapidamente em flores de corte (como gérberas, orquídeas, rosas e crisântemos) e plantas em vasos (como antúrios e poinsetias). O MIP foi aplicado em mais de 30% (1.800 ha) da área total de casas de vegetação com flores e ornamentais, em 2008, na Holanda. Programas de MIP de uso em cultivos de ornamentais em casa de vegetação comercial são apresentados por Parrella et al. (1999) para crisântemo, e por Lenteren (1995) para gérbera. Estima-se que mundialmente o uso corrente de programas de MIP em ornamentais é realizado em cerca de 3.000 ha.

**Tabela 5.** Programa de MIP aplicado em cultivo de tomate em casa de vegetação na Europa (LENTEREN, 2000).

Pragas e doenças	Método usado para prevenir ou controlar praga/doença
<b>Pragas</b>	
Mosca-branca ( <i>Bemisia tabaci</i> , <i>Trialeurodes vaporariorum</i> )	Parasitoides: <i>Encarsia</i> , <i>Eretmocerus</i> Predadores: <i>Macrolophus</i> , <i>Amblyseius</i>  Entomopatógenos: <i>Verticillium</i> , <i>Paecilomyces</i> , <i>Aschersonia</i>
Ácaro rajado ( <i>Tetranychus urticae</i> )	Predador: <i>Phytoseiulus</i>
Mosca-minadora ( <i>Liriomyza bryoniae</i> , <i>L. trifolii</i> e <i>L. huidobrensis</i> )	Parasitoides: <i>Dacnusa</i> , <i>Diglyphus</i> and <i>Opius</i> e controle natural <sup>1</sup>
Lepidoptera (ex. <i>Chrysodeixis chalcites</i> ,	Parasitoide: <i>Trichogramma</i>
<i>Lacanobia oleracea</i> , <i>Spodoptera littoralis</i> )	Entomopatógeno: <i>Bacillus thuringiensis</i>
Pulgões (ex. <i>Myzus persicae</i> , <i>Aphis gossypii</i> , <i>Macrosiphum euphorbiae</i> )	Parasitoide: <i>Aphidius</i> , <i>Aphelinus</i> Predadores: <i>Aphidoletes</i> e controle natural <sup>1</sup>
Nematoides (ex. <i>Meloidogyne</i> spp.)	Cultivares resistentes e tolerantes, cultivos em substrato (sem uso de solo)

Continua...

**Tabela 5.** Programa de MIP aplicado em cultivo de tomate em casa de vegetação na Europa (LENTEREN, 2000).

Pragas e doenças	Método usado para prevenir ou controlar praga/doença
<b>Doenças</b>	
Bolor cinza ( <i>Botrytis cinerea</i> )	Manejo do clima, controle mecânico e fungicidas seletivos
Leaf mold ( <i>Fulvia =Cladosporium</i> )	Cultivares resistentes, manejo do clima
Oídio ( <i>Oidium lycopersicon</i> )	Fungicidas seletivos
Murcha de Fusarium ( <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> )	Controle biológico com antagonistas, cultivares resistentes e cultivo em substratos (sem uso de solo)
Podridão de raiz ( <i>Fusarium oxysporum radicle-lycopersici</i> )	Controle biológico com antagonistas, cultivares resistentes, cultivo em substrato (sem uso de solo) e medidas higiênicas
Murcha de <i>Verticillium</i> ( <i>Verticillium dahliae</i> Kleb.)	Controle biológico com antagonistas, semente livre de patógenos (semente tratada), cultivares tolerantes, controle do clima e cultivo em substrato (sem uso de solo)
Cancro bacteriano ( <i>Clavibacter michiganensis</i> (Smith 1910) Davis et al.)	Sementes livres de patógenos (semente tratada) e cultivos em substrato (sem uso de solo)
Várias doenças virais	Cultivares resistentes, cultivos em substrato (sem uso de solo), medidas higiênicas, manejo de plantas daninhas e controle biológico do vetor
Polinização	Uso de insetos polinizadores

<sup>1</sup> Controle Natural: inimigos naturais espontaneamente migram para o interior das casas de vegetação e controlam a praga

## Considerações finais

Em vários trabalhos e programas para controle de pragas em sistemas de cultivos protegidos tem se observado que o controle biológico vem ganhando espaço dentro do cenário da moderna agricultura, com custos baixos e benefícios cada vez mais altos e satisfatórios do que o uso do controle químico. Estratégias integradas em cultivos em casas de vegetação, onde o controle biológico

é atuante, indicam ser esse um método de controle de pragas mais sustentável, que auxilia no manejo da resistência dos insetos-praga nesses ambientes e na redução de resíduos de pesticidas, sendo mais aceitável pelos agricultores, pelo mercado e pelos consumidores (BUENO, 2009).

O controle biológico é usado para várias pragas-chave presentes em cultivos em casas de vegetação em muitos países, principalmente na Europa. Assim, estimulados pelo aumento do sucesso deste método em países europeus, também está em pleno desenvolvimento em outras regiões e países, como o Brasil. Murphy et al. (2011) reportaram que uma pesquisa com os produtores de plantas ornamentais em casas de vegetação, no Canadá, revelou que 90% deles estão usando o controle biológico para resolver algum problema fitossanitário.

Existem vários estímulos conduzindo os produtores para maior uso do controle biológico, incluindo a limitada ou a falta de restrições legislativas, segurança para os trabalhadores, aumento da resistência aos produtos fitossanitários e ausência de resíduos dos bioagentes nos produtos comercializados (BADER et al., 2005). Segundo Lenteren e Bueno (2003), existem vários estímulos para adoção de estratégias de controle biológico como um componente do MIP, não somente para o mercado exportador de produtos, mas também para o uso mais regular de métodos sustentáveis de proteção de plantas em áreas com desenvolvimento de cultivos em casas de vegetação.

Cerca de 80% do controle biológico usado em cultivos protegidos em países europeus é para o controle de pragas em pepino, tomate e pimentão, e todos os cultivos dentro da horticultura juntos são responsáveis por cerca de 90% de todos os inimigos naturais comercializados. Entretanto, desde 1990, o uso do controle biológico tem aumentado para flores de corte (gérberas, orquídeas, rosas e

crisântemos) e plantas em vasos (poinsetia e antúrio) em casas de vegetação (LEENTEREN, 2007). No Brasil, na produção de diversas flores (lírios, espatifilos, begônias, orquídeas e rosas) em cultivo em casa de vegetação tem adotado o controle biológico. Um fato indicativo do sucesso deste método de controle é a redução no uso de produtos fitossanitários. Em cultivos de hortaliças esta redução foi, aproximadamente, de 80-90% (BOLCKMANS, 2007).

Em casas de vegetação na Europa, a mudança do controle químico para os mais avançados Programas de MIP começou há 20 anos. Atualmente, os produtores europeus introduzem, anualmente, milhões de inimigos naturais e antagonistas para controle de pragas em cultivo protegido. Cerca de 230 espécies de organismos benéficos estão disponíveis comercialmente para o controle de importantes insetos e ácaros-pragas e fitopatógenos. Nos principais cultivos de hortaliças, a maioria dos problemas com insetos pode ser resolvida sem o uso de inseticidas (LEENTEREN, 2010, 2012). Lenteren (2012) relata que ainda existem milhares de espécies de inimigos naturais a serem descobertas, e o conhecimento de um novo agente de controle biológico é caracterizado por uma alta taxa de sucesso quando comparado à taxa obtida em controle químico.

Na Holanda, mais de 90% dos cultivos de tomate, pepino, pimentão e berinjela são produzidos com programas de MIP (LEENTEREN, 2007, 2009). De acordo com van der Blom et al. (2009), o controle biológico na Almeria (Espanha) iniciou-se em pequena escala há cerca de 15 anos, inicialmente com resultados um tanto imprevisíveis. Entretanto, devido a disponibilidade de novos agentes de controle biológico e a experiência aumentada na implementação do MIP, o sistema tornou-se tecnicamente viável e economicamente mais atrativo. O controle biológico está sendo utilizado em cerca de 50% dos mais importantes cultivos em casas de vegetação na Almeria, incluindo todos os cultivos de pimentões. Sampson et al. (2009) reportaram que com o desenvolvimento de programas efeti-

vos, os custos do controle biológico e de programas de MIP foram reduzidos devido à inexistência de resíduos de inseticidas como o imidacloprid, os quais adversamente afetavam o estabelecimento de inimigos naturais em cultivos protegidos. Em 2008, o uso médio por produtores de pimentão na Almeria foi de: *Orius laevigatus* - 2,25 indivíduos/m<sup>2</sup>, *Amblyseius swirskii* – 60 indivíduos/m<sup>2</sup>, *Eretmocerus mundus* – 2 indivíduos/m<sup>2</sup> e *Aphidius colemani* - 0,15 indivíduos/m<sup>2</sup>. Os custos desse programa foram 30% menores do que o controle químico. Os mesmos autores mostraram que, em cultivos protegidos de crisântemo, na Holanda, os custos do MIP foram maiores do que o controle químico, mas não houve diferença na produção de flores. Entretanto, os retornos financeiros para os produtores foram 3% (com liberação de *Neoseiulus cucumeris*) e 7% (com pulverizações de BotanicGard) superiores quando da utilização do MIP.

MacDougall (2010) relata que a taxa de sucesso do controle químico diminuiu de 1:50.000 em 1995 para 1:140.000 em 2008, pois os custos do desenvolvimento aumentou durante as últimas décadas. Por outro lado, os custos do desenvolvimento de um agente de controle biológico são uma fração do controle químico e as taxas de benefícios/custos para controle biológico inoculativo são mais altas do que para o controle químico, sendo isto também aplicável ao controle biológico aumentativo (LENTEREN, 2012).

Os custos do MIP estão sendo inferiores ao controle químico e, por outro lado, se mostram com maiores índices de sustentabilidade nos cultivos protegidos. A prática demonstra que os produtores são relutantes em tentar utilizar o MIP, principalmente se for mais caro e complicado do que o controle químico. Entretanto, a relutância diminui se o retorno financeiro for superior ao controle químico. Dessa forma, o controle biológico tem um papel importante no manejo de pragas em cultivos protegidos.

No Brasil, embora a área com cultivo protegido esteja em expansão, a utilização do controle biológico de pragas e doenças ainda é limitada. Entretanto, alguns programas estão em andamento e com perspectivas promissoras para aumento na implementação de programas de controle biológico para as pragas e doenças que ocorrem em cultivos protegidos, seja em hortaliças ou ornamentais. O fato da comunidade exigir alimentos livre do uso de agrotóxicos, principalmente os consumidos *in natura*, indica para a crescente utilização do controle biológico em cultivo protegido.

## Referências

ALBAJES, R.; GULLINO, M. L.; LENTEREN, J. C. van; ELAD, Y. (Ed.). **Integrated pest and disease management in greenhouse crops**. Dordrecht: Kluwer Publishers, 1999. 545 p

AMPELOMYCES quisqualis (AQ10) NYSDEC registration of new active ingredient 1/96. Disponível em: <<http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/fung-nemat/aceticaacid-etridiazole/aq10/new-act-ing-ampelomyces.html>>. Acesso em: 28 abr. 2009.

ATKINSON, D.; MCKINLAY, R. G. Crop protection in sustainable farming systems. In: MCKINLAY, R. G.; ATKINSON, D. (Ed.). **Integrated crop protection: towards sustainability**. Farnham: British Crop Protection Council, 1995. p. 483-488. (BCPC Symposium Proceedings, 63).

BADER, A.; HEINZ, K.; WHARTON, R. Impact of interspecific interactions on inoculative biological control of leafminers. **IOBC/WPRS Bulletin**, [S.l.], v. 28, n. 1, p. 5-9, 2005.

BAJONERO, J.; CÓRDOBA, N.; CANTOR, F.; RODRÍGUEZ, D.; CURE., J. R. Biología y ciclo reproductivo de *Apanteles gelechiidivoris* (Hymenoptera: Braconidae), parasitoide de *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Agronomía Colombiana**, Bogotá, v. 26, n. 3, p. 417-426, 2008.

BARTLETT, G. R.; KEIL, C. B. O. Identification and characterization of a permethrin resistance mechanism in populations of the fungus gnat *Lycoriella mali* (Fitch) (Diptera: Sciaridae). **Pesticide Biochemistry Physiology**, San Diego, v. 58, n. 3, p. 173-181, 1997.

BEDENDO, I. P. Oídios. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM L. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p. 866-871.

BENNISON, J.; POPE, T.; MAULDEN, K. The potential use of flowering alyssum a “banker” plant to support the establishment of *Orius laevigatus* in everbearer strawberry for improved biological control of western flower thrips. **IOBC/WPRS Bulletin**, [S.l.], v. 68, n. 1, p. 15-18, 2011.

BETTIOL, W. Biopesticide use and research in Brazil. **Outlooks on Pest Management**, Hemel Hempstead, v. 22, n. 6, p. 280-283, 2011.

BETTIOL, W.; ASTIARRAGA, B. D.; LUIZ, A. J. B. Effectiveness of cow’s milk against zucchini squash powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) in greenhouse conditions. **Crop Protection**, Guildford, v. 18, n. 8, p. 489-492, 1999.

BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B.; PINTO, Z. V.; PAULA JÚNIOR, T. J. de; CORRÊA, É. B.; MOURA, A. B.; LUCON, C. M. M.; COSTA, J. de C. do B.; BEZERRA, J. L. **Produtos comerciais à base de agentes de biocontrole de doenças de plantas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2012. 155 p. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 88).

BIELZA, P. Insecticide resistance management strategies against the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. **Pest Management Science**, West Sussex, v. 64, n. 11, p. 1131-1138, 2008.

BIOFUNGICIDES: Should you use biofungicides?. Disponível em: <[http://www.growthproducts.com/pdfs/gmpro\\_biofungicide\\_October2002.pdf](http://www.growthproducts.com/pdfs/gmpro_biofungicide_October2002.pdf)>. Acesso em: 28 abr. 2009.

BLOM, J. van der; ROBLEDO, A.; TORRES, S.; SANCHEZ, J. A. Consequences of the wide scale implementation of biological control in greenhouse horticulture in Almeria, Spain. **IOBC/WPRS Bulletin**, [S.l.], v. 49, p. 9-13, 2009.

BLOM, J. van der; ROBLEDO, A.; TORRES, S.; SANCHÉZ, J. A.; CONTRERAS, M. Control biológico de plagas en Almeria: Revolución verde después de dos décadas. **Phytoma**, Valencia, v. 198, p. 42-48, 2008.

BOLCKMANS, K. J. F. Reliability, quality and costs: the basic challenges of commercial natural enemy production. **Global IOBC Bulletin**, [S.l.], v. 3, n. 1, p. 8-11, 2007.

BUENO, V. H. P. Cochonilhas. **Revista Plasticultura**, Campinas, n.13, p. 28-30, 2010.

BUENO, V. H. P. Controle biológico de pragas: um método de sucesso no controle de pragas em cultivos protegidos. **Revista Plasticultura**, Campinas, n. 10, p. 28-31, 2009.

BUENO, V. H. P. Controle de pragas em ornamentais sob sistema protegido. In: VENZON, M.; PAULA JUNIOR, T. J. de; PALLINI, A. (Ed.). **Avanços no controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa: Suprema, 2008. p. 71-94.

BUENO, V. H. P. Implementation of biological control in greenhouses in Latin America: how far are we? In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BIOLOGICAL CONTROL OF ARTHROPODES, 2., 2005, Davos. **Proceedings...** Washington, DC: USDA, 2005b. v. 2, p.531-537.

BUENO, V. H. P. IPM and biological control of protected cropping in some developing greenhouse regions. **IOBC/WPRS Bulletin**, [S.l.], v. 28, n. 1, p. 23-26, 2005a.

BUENO, V. H. P.; LENTEREN, J. C. van; LINS JUNIOR., J. C.; CALIXTO, A. M.; MONTES, F. C.; SILVA, D. B.; SANTIAGO, L. D.; PEREZ, L. M. New records of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) predation by Brazilian Hemipteran predatory bugs. **Journal Applied Entomology**, Berlin, v. 137, n. 1-2, p. 29-34 2013.

BUENO, V. H. P.; POLETTI, M. Progress with biological control and IPM strategies in protected cultivation in Brazil. **IOBC/WPRS Bulletin**, [S.l.], v. 49, n. 1, p. 31-36, 2009.

BUENO, V. H. P.; SILVA, A. R.; CARVALHO, L. M.; MOURA, N. Control of thrips with *Orius insidiosus* in greenhouse cut roses: use of a banker plant improves the performance of the predator. **IOBC/WPRS Bulletin**, [S.l.], v. 49, p. 183-187, 2009.

CALVO, F. J.; BELDA, J. E. Uma nueva estratégia para el control biológico de mosca branca y *Tuta absoluta* em tomate. **Phytoma**, Valencia, v. 216, p. 46-52, 2010.

CARVALHO, A. R.; BUENO, V. H. P.; SILVA, D. B.; COSTA, V. A. Record of *Diglyphus* Walker (Hymenoptera: Eulophidae) species in Brazil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 40, n. 2, p. 290-291, 2011.

CARVALHO, A. R.; BUENO, V. H. P.; SILVA, D. B.; PETRAZZINI, L. L.; YURI, J. Population fluctuation of leafminers and their parasitoids in a commercial American lettuce crop in Brazil. **IOBC/WPRS Bulletin**, [S.l.], v. 49, p.247-252, 2009.

COCK, M. J. W.; LENTEREN, J. C. van; BRODEUR, J.; BARRAT, B. I. P.; BIGLER, F.; BOLCKMANS, K.; HAAS, F.; MASON, P. G.; PARRA, J. R. P. Do new access and benefit sharing procedures under the convention on biological diversity threaten the future of biological control? **BioControl**, Dordrecht, v. 55, n. 2, p. 199-218, 2010.

COOK, R. J.; BAKER K. F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. St Paul: APS, 1983. 539 p.

CUTHBERTSON, A. G. S.; MATHERS, J. J.; NORTHING, P. PRICKETT, A. J.; WALTERS, K. F. A. The integrated use of chemical insecticides and the entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae* (Nematoda: Steinernematidae), for the control of sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Insect Science*, Oxford, v. 15, n. 5, p. 447-453, 2008.

GLIESSMAN, S. R. **Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável**. Porto Alegre: Ed. da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005. 653 p.

GRIFFITHS, D. A. Biological control of mites. In: ALBAJES, R.; GULLINO, M.L.; LENTEREN, J. C. van; ELAD, Y. (Ed.). **Integrated pest and disease management in greenhouse crops**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1999. p. 217-234.

GUEDES, R.; PICANCO, M. The tomato borer *Tuta absoluta* in South America: pest status, management and insecticide resistance. **EPPO Bulletin**, Oxford, v. 42, n. 2, p. 211-216, 2012.

KIM, H. H.; CHOO, H. Y.; KAYA, H. K.; LEE, D. W.; LEE, S. M.; JEON, H. Y. *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae) as a biological control agent against the fungus gnat *Bradysia agrestis* (Diptera: Sciaridae) in propagation houses. **Biocontrol Science and Technology**, New York, v. 14, n. 2, p. 171-183, 2004.

LENTEREN, J. C. van. A greenhouse without pesticides: fact of fantasy? **Crop Protection**, Guildford, v. 19, n. 6, p. 375-384, 2000.

LENTEREN, J. C. van. Biological control for insects pests in greenhouses: an unexpected success. In: VINCENT, C.; GOETTEL, M. S.; LAZAROVITS, G. (Ed.). **Biological control: a global perspective**. Wallingford: CAB International, 2007. p. 105-111.

LEENTEREN, J. C. van. **Ecology**: cool science, but does it help? Wageningen: Wageningen University, 2010. 44 p.

LEENTEREN, J. C. van. Integrated pest management in protected crops. In: DENT, D. (Ed.). Integrated pest management. London: Chapman and Hall, 1995. p. 311-343.

LEENTEREN, J. C. van. IPM in greenhouse vegetables and ornamentals. In: RADCLIFFE, E. B.; HUTCHISON, W. D.; CANCELADO, R. E. (Ed.). **Integrated pest management**. Cambridge: Cambridge University Press, 2009. p. 354-365.

LEENTEREN, J. C. van. The area under biological control and IPM in greenhouse is much larger than we thought. **Sting**, [S.l.], v. 29, p. 7, 2006.

LEENTEREN, J. C. van. The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. **BioControl**, Dordrecht, v. 57, n. 1, p. 71- 84. 2012.

LEENTEREN, J. C. van; MARTIN, N. A. Biological control of whiteflies. In: ALBAJES, R.; GULLINO, M. L.; LENTEREN, J. C. van; ELAD, Y. (Ed.). **Integrated pest and disease management in greenhouse crops**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1999. p. 202-216.

LUNA, M. G.; SÁNCHEZ, N. E.; PEREYRA, P. C. Parasitism of *Tuta absoluta* (Lepidoptera, Gelechiidae) by *Pseudapanteles dignus* (Hymenoptera, Braconidae) under laboratory conditions. **Environmental Entomology**, Oxford, v. 36, n. 4, p. 887-893, 2007.

MACDOUGALL, P. **The costs of new agrochemical product discovery**: development and registration in 1995, 2000 and 2005-8; R&D expenditure in 2007 and expectations for 2012: consultancy study for Crop Life America and European Crop Protection Association, 2010. Pathhead: [s.n.], 2010.

MALAIS, M.; RAVENSBERG, W. J. **The biology of glasshouse pest and their natural enemies**: knowing and recognizing. 2nd. ed. Doetinchem: Reed Business Information, 2003. 288 p.

MANUAL de prácticas y actuaciones agroambientales. Madrid: Editorial Agrícola Española: Mundi-Prensa, 1996. 310 p.

MANRIQUE, L. A. Greenhouse crops: a review. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 16, n. 12, p. 2411-2477, 1993.

MIZUBUTI, E. S. G.; MAFFIA, L. A. Aplicações de princípios de controle o manejo ecológico de doenças de plantas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 22, n. 212, p. 9-18, 2001.

MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Integração de métodos biocompatíveis no manejo de doenças e pragas: experiências em plantas ornamentais e medicinais. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, DF, v. 33, p. 31-34, 2008. Suplemento. Edição dos resumos do XLI Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Belo Horizonte, 2008.

MURPHY, G. D.; GATE, C.; WATSON, G. R. An update on the use of biological control in greenhouse ornamental crops in Canada. **IOBC/WPRS Bulletin**, [S.l.], v. 68, p. 125-128, 2011.

MURPHY, S. T.; LA SALLE, J. Balancing biological control strategies in the IPM of new World invasive *Liriomyza* leafminers in field vegetable crops. **BioControl**, Dordrecht, v. 20, p. 91-104, 1999.

ONILLON, J. C. Biological control of leafminers. In: ALBAJES, R.; GULLINO, M. L.; LENTEREN, J. C. van; ELAD, Y. (Ed.). **Integrated pest and disease management in greenhouse crops**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1999. p. 254-264.

PARRA, J. R. P.; CONSOLI, F. L. Criação massal e controle de qualidade de parasitóides de ovos. In: BUENO, V. H. P. (Ed.). **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. Lavras: Editora UFLA, 2009. p. 170-197.

PARRELLA, M. P.; HANSEN, L. S.; LENTEREN, J. C. van. 1999. Glasshouse environments. In: BELLOWS, T. S.; FISHER, T. W. (Ed.). **Handbook of biological control**. San Diego: Academic Press, 1999. p. 819-839.

PAULITZ T. C.; BÉLANGER, R. R. Biological control in greenhouse systems. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 39, p. 103-33, 2001.

PERDIKIS, D.; KAPAXIDI, E.; PAPADOULIS, G. Biological control of insect and mite pests in greenhouse Solanaceous crops. **European Journal of Plant Science and Biotechnology**, Isleworth, v. 2, p. 125-144, 2008. Special issue 2.

PEREYRA, P. C.; SÁNCHEZ, N. E. Effect of two solanaceous plants on development and population parameters of the tomato leaf miner, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 35, n. 5, p. 671-675, 2006.

PILKINGTON, L. J.; MESSELINK, G.; LENTEREN, J. C. van; LE MOTTEE, K. Protected biological control – Biological pests management in the greenhouse industry. **Biological Control**, Orlando, v. 52, p. 216-220, 2010.

PIJNAKER, J.; LEMAN, A. Biological control of tarsonemid mites in greenhouse grown gerberas. **IOBC/WPRS Bulletin**, [S.l.], v. 68, p. 135-138, 2011.

RABASSE, J. M.; STEENIS, M. J. van. Biological control of aphids. In: ALBAJES, R.; GULLINO, M. L.;

REIJNTJES, C.; HAVERKORT, B.; WATERS-BAYER, A. **Farming for the future: an introduction to low-external-input and sustainable agriculture**. Leusden: MacMillan, 1992. 250 p.

RAVENSBERG, W. J. (Ed.). A roadmap to the successful development and commercialization of microbial pest control products for control of arthropods. Dordrecht: Springer, 2011. 383 p.

SAMPSON, C.; EEKHOFF, D.; PARRA, R. H.; LEWIS, J. The economic benefits of adopting integrated pest management in protected pepper, chrysanthemum and strawberry crops. **IOBC/WPRS Bulletin**, [S.l.], v. 49, p. 15-20, 2009.

SÁNCHEZ, N. E.; PEREYRA, P. C.; LUNA, M. G. Spatial patterns of parasitism of the solitary *Pseudapanteles dignus* (Hymenoptera: Braconidae) on *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Environmental Entomology**, Oxford, v. 38, n. 2, p. 365-374, 2009.

STADNIK, M. J.; RIVERA, M. C. **Oídios**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2001. 484 p.

STEENIS, M. J. van; EL-KHAWASS, K. A. M. H. Life story of *Aphis gossypii*: influence of temperature, host plant, and parasitism. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Oxford, v. 76, n. 2, p. 121-131, 1995.

URBANEJA, A.; JACAS, J. Tipos de controle biológico y métodos para sua implementación. In: JACAS, J. A.; URBANEJA, A. (Ed.). **Control biológico de plagas agrícolas**. Valencia: Phytoma, 2008. p. 15-24.

WAAGE, J. K.; GREATHEAD, D. J. Biological control: challenges and opportunities. **Philosophical Transactions of the Royal Society, B**, London, v. 318, n. 1189, p. 111-128, 1988.

WYATT, J. J.; LEDIEU, M. S.; STACEY, D. L.; WHITE, P. F. Crop loss due to pests. In: GLASSHOUSE CROPS RESEARCH INSTITUTE. **Annual report of the Glasshouse Crops Research Institute**. Littlehampton, 1984. p. 88-93.

YANO, E.; TOYONISHI, H.; IANI, K.; ABE, J. Development of a new banker plant system to control aphids in protected culture. **IOBC/WPRS Bulletin**, [S.l.], v. 68, p. 195-198, 2011.

## Pesticidas Naturais Derivados de Plantas: Descoberta e Usos

Rita M. Moraes, Antonio Luiz Cerdeira, Stephen O. Duke,  
Franck E. Dayan, Charles Cantrell e Sonia C. N. Queiroz

---

### Introdução

Uma agricultura com base em elevado nível de tecnificação, com uso de tratores equipados com sofisticados softwares de controle, irrigação de precisão e alto consumo de insumos agrícolas, convive com uma agricultura que ainda utiliza métodos como a queima, uma realidade vivida em algumas partes do mundo, inclusive no Brasil. Assim como as técnicas empregadas, os problemas e as necessidades, variam entre essas diferentes realidades. No entanto, para os agricultores o rendimento por área é o objetivo comum, que independe do tipo de manejo adotado na produção.

Um cenário malthusiano (THOMAS ROBERT MALTHUS, 1766-1834, elaborou uma lei científica que previa: enquanto o crescimento populacional obedeceria a uma progressão geométrica, o aumento da produção agrícola teria um ritmo apenas aritmético<sup>1</sup>) de populações famintas e esgotamento de recursos naturais foi superado nos países mais desenvolvidos pela Revolução Verde, onde o uso da tecnologia e os investimentos em melhoramento genético das principais culturas, na irrigação, adubação e proteção

---

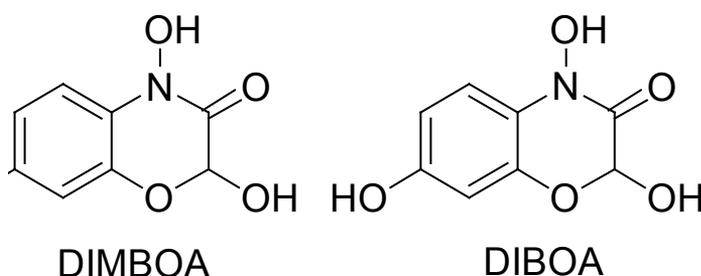
<sup>1</sup> Ricardo Abramovay, Alimentos versus população: está ressurgindo o fantasma malthusiano? Ciência e Cultura, vol. 64, n. 4, p. 38-43, 2010.

com pesticidas sintéticos permitiram aumento da produtividade por área (EVENSON; GOLLIN, 2003). O mérito dessa revolução começou a ser criticado quando se constataram os danos ambientais causados pelo uso inadequado das tecnologias, principalmente de pesticidas. Incluem-se entre os danos a poluição de águas, a morte de insetos benéficos e dos inimigos naturais, e o comprometimento da sustentabilidade da vida selvagem. Práticas de irrigação e adubação excessiva levaram ao acúmulo de sal e ao eventual abandono de algumas das melhores terras agrícolas, o nível do lençol freático baixou em áreas onde o uso foi maior do que o repostado pelas chuvas, e muitos agricultores utilizaram insumos sem um treinamento adequado causando impactos negativos no ambiente (TILMAN, 1998).

A promulgação, em 1996, da lei de Proteção à Qualidade Alimentar (Food Quality Protection Act) pelo Congresso Americano incumbiu a Agência de Proteção ao Meio Ambiente (EPA) de implementar uma reforma abrangente visando determinar os níveis permitidos para cada pesticida comercializado (ESTADOS UNIDOS, 1996). Por isso, muitos produtos foram proibidos, surgindo a necessidade da implementação de técnicas alternativas mais eficientes para o controle de pragas. Hoje, para o registro de novos pesticidas de uso na agricultura e doméstico, os produtos passam por normas e critérios rigorosos de avaliação ambiental (RAGSDALE, 2004). As práticas agrícolas de base ecológica, a rotação de culturas e o plantio intercalado estão recebendo maior atenção e novos incentivos à pesquisa com vistas à diminuição ou eliminação do uso de pesticidas. Além da inovação nas práticas agrícolas, o descobrimento e uso de pesticidas naturais têm atraído a atenção da comunidade científica e, também, de algumas empresas de insumos, fatos que contribuíram na formação de novos pesquisadores nessa área.

Produtos naturais são fontes de muitos pesticidas comercializados atualmente em diferentes partes do mundo. Esses produtos podem

ser aplicados diretamente na forma de extratos ou como substâncias puras extraídas de plantas, microrganismos e animais. Além dos extratos, muitas substâncias ativas, que apresentam estruturas simples e eficácia comprovada, podem servir de protótipo para a síntese química na fase de desenvolvimento de novos pesticidas (DUKE et al., 2000b). As piretrinas são os primeiros exemplos de compostos naturais que serviram de protótipos para síntese de inseticidas. Exemplos do uso de produto natural como herbicida são os glicosídeos hidroxâmicos DIBOA e DIMBOA, isolados de gramíneas (Figura 1) (VIRTANEN; HIETALA, 1960). Em 1994, Souza e Einhellig (1994) estudaram o potencial alelopático da 2-benzoxazolinona, que também está associado à resistência da planta hospedeira contra doenças microbianas e aos insetos.



**Figura 1.** Estruturas dos produtos naturais encontrados em muitos cereais e que estão envolvidos em alelopatia.

Os benefícios do uso dos pesticidas naturais na agricultura são inúmeros, segundo Duke et al. (2002), mas vale a pena salientar três deles: 1) São produtos que apresentam uma meia-vida curta já que as estruturas químicas estão presentes na natureza e são, portanto, de fácil degradação; 2) O risco do desenvolvimento de novos mecanismos de resistência devido ao uso contínuo diminui muito

se os produtos forem aplicados na forma de extratos com mais de um princípio ativo; e 3) São produtos que possuem poucos halogênios ligados em suas moléculas e, portanto, apresentam menor risco de impacto ambiental.

Além dos benefícios, a proposta do descobrimento de pesticidas a partir de fontes naturais tem razões convincentes, tais como, os inúmeros compostos ativos ainda não explorados. Milhares desses compostos são produzidos por plantas, microrganismos e animais em decorrência da coevolução dos organismos produtores e suas pragas. Portanto, a grande maioria dos compostos naturais apresenta atividade biológica, com ações de fitotoxinas se produzidas por patógenos de plantas ou alelopáticas se forem sintetizadas por plantas (DUKE et al., 2000a). Mesmo que esses compostos tenham funções específicas na natureza, alguns biocidas podem ser usados para diferentes propósitos, razão pela qual muitos produtos naturais são drogas farmacêuticas. Resumindo, é mais fácil encontrar na natureza compostos com atividade biológica do que sintetizar compostos aleatoriamente e que apresentem atividade biológica.

Os pesticidas, assim como os fármacos, têm como alvo certas funções biológicas e este modo de ação pode ser igual em diferentes organismos (DUKE, 2010). Compostos de uma mesma classe química podem ser considerados tanto um fármaco como um pesticida. Um exemplo é a nitisinona (NTBC) que é uma droga medicinal originalmente desenvolvida como um herbicida e hoje utilizada como fármaco no tratamento da tirosinemia hereditária do tipo 1. A Nitisinona atua na enzima *p*-hidroxifenil-piruvato dioxigenase, que possui funções diferentes em humanos e em plantas. Desde a sua primeira utilização para fins terapêuticos da tirosinemia, em 1991, esse composto substituiu o transplante de fígado como um tratamento de primeira linha para essa doença rara (MCKIERNAN, 2006). Esse exemplo mostra o motivo pelo qual muitas indústrias químicas mantêm em seus quadros de pesquisa duas divisões: a

farmacêutica e a agroquímica. Como exemplo na área governamental o Centro Thad Chochran de Pesquisas em Produtos Naturais, na Universidade do Mississippi, tem estrutura para os bioensaios farmacêuticos e agroquímicos, e são conduzidos por pesquisadores da escola de Farmácia e do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos da América, abrangendo um programa de descoberta de novos fármacos e pesticidas naturais a partir de plantas, microrganismos e organismos marinhos (DUKE et al., 2000b)

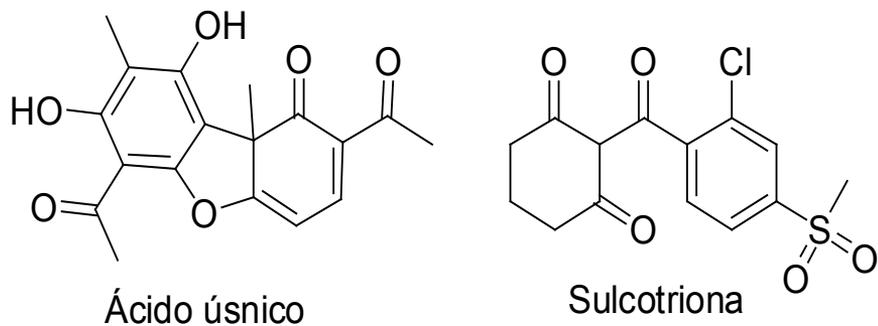
Este capítulo abordará o descobrimento de pesticidas naturais derivados de plantas e que já se encontram no comércio, assim como alguns derivados que apresentam atividades biológicas, tanto pesticidas como farmacológicas. Essa revisão pretende apresentar uma pequena amostra do que se sabe sobre o uso de produtos naturais no controle de plantas daninhas, patógenos e insetos, e abrange também as estratégias que foram usadas no descobrimento de novos pesticidas e novas atividades de compostos já conhecidos.

## **2. Estratégias para o descobrimento**

### **2.1. Compostos conhecidos e suas atividades**

Geralmente, os compostos naturais que têm as estruturas elucidadas já foram testados em alguns bioensaios e foram submetidos aos testes para avaliar o potencial de suas atividades como pesticidas naturais (herbicidas, fungicidas, inseticidas e algicidas). Portanto, é aconselhável que, ao invés de testar todos os compostos já isolados, seja realizada uma seleção prévia baseada nas estruturas químicas e nas atividades biológicas já descritas na literatura, para os bioensaios agrônômicos de compostos com estruturas semelhantes às fitotoxinas conhecidas e estruturas parecidas com as dos inibidores enzimáticos ou de compostos com determinadas funções nas plantas não desejáveis. Isso é chamado de desco-

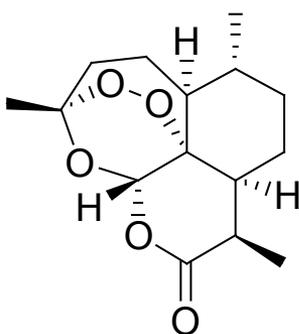
brimento guiado por estruturas semelhantes (DUKE, 2010). Para exemplificar esse tipo de estratégia, há o relato da descoberta feita por Romagni et al. (2000b) do ácido úsnico, composto extraído de líquen, cuja estrutura é semelhante à classe de herbicidas tricetonas, que inibe a enzima 4-hidroxifenilpiruvato-dioxigenase. O ácido úsnico é semelhante ao herbicida sintético sulcotriona que atua em dicotiledôneas (Figura 2).



**Figura 2.** Estruturas químicas do ácido úsnico (composto extraído de líquen) e do sulcotriona (herbicida que atua em dicotiledôneas).

Na seleção dos compostos naturais aos bioensaios agrícolas deve-se priorizar aquelas substâncias que já têm atividade terapêutica conhecida. Um exemplo do uso dessa estratégia é o caso do fármaco antimalárico, que também apresenta atividade fitotóxica. De acordo com Lang-Unnasch et al. (1998), os agentes patogênicos como *Plasmodium* spp. possuem um apicoplasto, organela plastidial semelhante aos plastídeos de plantas. O apicoplasto tem algumas vias metabólicas e processos essenciais semelhantes às plantas. Assim, compostos que atuam no apicoplasto têm atividade antimalárica e também fitotóxica, como herbicida. A artemisinina, uma lactona sesquiterpênica (Figura 3) extraída da planta *Artemisia annua* L., que pertence a família Asteraceae, tem propriedades

antimaláricas e também fitotóxica (DUKE et al., 1994), mas o modo de ação da artemisinina e de outros compostos análogos não é conhecido (DAYAN et al., 1999).



**Figura 3.** Estrutura química da artemisinina, lactona sesquiterpênica (ou sequiterpeno lactonizado) isolado de *Artemisia annua* L.

## 2.2. Descobrimiento de novos compostos

Como selecionar as espécies de plantas como fonte potencial de novos pesticidas, se milhares de compostos naturais têm atividade biológica e muitas plantas não foram estudadas adequadamente? Toda seleção de plantas-alvo para o descobrimiento de pesticidas naturais pode ser aleatória; entretanto, a diversidade química é imensa e os recursos são limitados, por isso cientistas optam por selecionar espécies com base nas abordagens taxonômicas, relações ecológicas, muitas vezes em pistas etnobotânica e até em uma combinação de dados.

### 2.2.1. Abordagem taxonômica

Os alcalóides presentes em plantas da família Amaryllidaceae apresentam vários tipos de estruturas, mas todas derivam biogeneticamente da norbeladina e derivados, que são produzidos a partir do aldeído aromático 3,4-diidroxibenzaldeído derivado da fenilamina e de monoamina, a tiramina, derivada da tirosina.

A produção desses compostos está ligada ao ciclo sazonal do desenvolvimento. As Amaryllidaceae apresentam variação ontogênica de alcalóides que também está ligada a fatores de estresse, tais como lesões por incisão ou ataques de insetos, que provocam uma hidrólise quase que completa desses compostos (GHOSAL et al., 1990).

Assim, os alcalóides nas Amaryllidaceae são essenciais para a sobrevivência das espécies e, por isso, apresentam vasta gama de efeitos fisiológicos, incluindo antitumoral, antiviral, inibidor de acetilcolinesterase, imunestimulante e atividade antimalárica. Esses alcalóides e derivados foram avaliados quanto ao potencial de uso no controle de diversas pragas agrícolas e concluiu-se que licorine e alguns dos seus análogos (1-O-acetillicorine e cloridrato de licorine) são altamente tóxicos aos insetos. Plantas pertencentes a essa família têm potencial de produzir esses alcalóides com atividades inseticidas, fungicidas e herbicidas (GHOSAL et al., 1990)

### 2.2.2 Abordagem ecológica

As relações ecológicas entre espécies podem ser um dos critérios para a seleção de plantas que produzem fitotoxinas. Se a planta é conhecida por ter uma ação alelopática, espera-se que essa espécie produza aleloquímicos (MACIAS et al., 2001). Apesar dos muitos relatos na literatura, poucos extratos foram fracionados e os compostos ativos com ação fitotóxica isolados. A maioria dos aleloquímicos isolados até a presente data é solúvel em água (DUKEM, 2010).

As plantas produzem muitos compostos fitotóxicos que não têm uma função aparente nas interações planta-planta. Um exemplo é a artemisinina (Figura 3), produzida somente nos tricomas da espécie *A. annua* (DUKE et al., 1994) e, apesar de ser um composto altamente fitotóxico, não se sabe ainda qual a função desta substância na natureza. Já o hipericina, principal constituinte ativo do *Hypericum perforatum* L., da família Guttiferae, tem ação inseticida,

principalmente contra insetos sugadores. Outras espécies produzem compostos tóxicos e têm estruturas especializadas para sequestrar e inativar compostos que possam ser autotóxicos, como estratégia de sobrevivência.

### 2.2.3 Abordagem usando pistas etnobotânicas

Muitas são as contribuições de pistas etnobotânicas no descobrimento de novos fármacos e também pesticidas naturais. Um exemplo recente foi a descoberta de dois terpenos, o calicarpenal e o intermedeol, extraídos da *Callicarpa americana* L., que pertence a família Labiatae, também conhecida como amora americana, com ação repelente a insetos (CARROL et al., 2007). Essa descoberta só foi possível quando, no início do século 20, os agricultores relataram que as folhas esmagadas da espécie *C. americana* eram colocadas sob os arreios de cavalos e mulas para repelir mosquitos. Uma informação tão simples foi fundamental para que os trabalhos de isolamento desses terpenos fossem realizados por Carroll et al. (2007).

## 2.3 Isolamento bioguiado

Após a seleção do material vegetal para separação entre componentes ativos e não ativos, procede-se ao fracionamento pela partição do extrato bruto em frações polares e apolares com o uso de solventes. Alíquotas são testadas para saber onde se encontra a atividade biológica (e. g. fitotoxicidade, inseticida). O fracionamento continua nas frações onde a atividade é aparente (DUKE et al., 2000b). Colunas cromatográficas separam as subfrações que são coletadas e testadas. Os trabalhos cromatográficos continuam até que compostos puros sejam obtidos. Esse processo é chamado de isolamento bioguiado.

Muitas espécies medicinais já foram fracionadas e muitas substâncias isoladas tiveram as ações terapêuticas descritas na literatura (SOBOLEV et al., 2011). Apesar de o isolamento bioguiado ser uma técnica ainda pouco usada no descobrimento de pesticidas, alguns trabalhos podem ser citados como referências ao isolamento bioguiado de compostos, por exemplo: os alcalóides isolados por Choudhary e Atta-ur-Rahman (1997) com atividades contra insetos sugadores e nematicidas, assim como as fitotoxinas de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench, família Poaceae (RIMANDO et al., 1998), *Leucophyllum frutescens* (Berland.) I. M. Johnst, que pertence a família Scropholariacea (Rimando et al., 1999), da *Imperata cylindrica* (L.) P. Beauv., família Poaceae (CERDEIRA et al., 2012) e *Conyza canadensis* L. Conquist da família Asteraceae (QUEIROZ et al., 2012), além do repelente calicarpenal da *C. americana* (CARROL et al., 2007).

Para se ter sucesso no processo de isolamento guiado pela atividade é importante considerar a escolha do bioensaio mais apropriado, assim como a extração da parte certa da planta onde o composto está armazenado, além de testar as frações e subfrações nas mesmas concentrações (DUKE et al., 2002).

O isolamento bioguiado é um processo estabelecido e relativamente automatizado onde o avanço das tecnologias permite que durante a separação dos compostos, quando os picos dos extratos injetados são detectados por cromatografia líquida de alta eficiência, uma porção seja coletada para o bioensaio enquanto que outra vá para a análise estrutural no espectrômetro de massas (Constant e Beecher, 1995) e ressonância magnética nuclear (RMN) (LINDON et al., 1996).

A automatização completa dos instrumentos analíticos acoplados com pipetadores para a coleta de frações para os bioensaios reduz o tempo e facilita também o trabalho de isolamento de compostos conhecidos com chances de identificação de novas estruturas com atividade biológica específica (LINDON et al., 1996). Segundo

Bailey et al., (2000), a automatização completa da instrumentação integrada foi usada na identificação da 5-nitropiridona e outros metabólitos de milho. O descobrimento de novos pesticidas naturais será altamente facilitado com o emprego da instrumentação automatizada, tais como a cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massa (CL/EM) e CL/EM/RMN (Duke, 2000).

## **2.4 Plantas medicinais e aromáticas como fonte de matéria prima para a indústria de agroquímicos**

As plantas medicinais e aromáticas são fonte para a produção de óleos essenciais, medicamentos, corantes naturais, cosméticos e biocidas, que são cultivadas ou simplesmente coletadas. Para Canter et al. (2005), somente 10% das plantas comercializadas na Europa são cultivadas. Isso levou a uma crescente preocupação com relação a populações de plantas que estão sofrendo perda da variabilidade genética e também dos habitats. A necessidade de matéria-prima renovável para a indústria farmacêutica e agroquímica também cria oportunidade para pequenos fazendeiros e comunidades agrícolas de cultivar essas plantas.

## **3. Herbicidas naturais**

### **3.1 Extratos de plantas com ação fitotóxica e herbicida**

As plantas produzem uma série de compostos de defesa com potencial herbicida, inseticida e fungicida naturais. O apelo de tecnologias "verdes" já começou a modificar a forma de pensar a agricultura convencional, com renovação no interesse das empresas nas descobertas de produtos naturais. De acordo com Dayan e Duke

(2010) e Dayan et al. (2011), os herbicidas naturais apresentam-se como uma ponte potencial entre a agricultura tradicional e a orgânica, e grandes empresas agroquímicas estão buscando e desenvolvendo novas ferramentas no manejo ecológico de plantas daninhas.

Os monoterpenos cineóis são compostos naturais encontrados em óleos essenciais de plantas aromáticas, citamos como exemplos: *Laurus nobilis* L. Lauraceae, *Salvia* spp. L. Labiatae, *Eucalyptus* spp. L'Hérit, da família Myrtaceae e *Artemisia* spp. Muitos monoterpenos voláteis têm ação fitotóxica e um desses compostos, o 1, 8-cineol foi identificado como um dos mais potentes aleloquímicos liberados pelas plantas do gênero *Artemisia*. O 1,4 cineol é comumente encontrado em baixas concentrações. O herbicida cinmetilina, composto com uma estrutura análoga ao 1,4-cineol, é um potente inibidor da enzima asparagina sintetase (ROMAGNI et al., 2000a).

Na Tabela 1 estão apresentados exemplos de produtos naturais disponíveis no mercado dos EUA.

**Tabela 1.** Exemplos de produtos naturais encontrados no mercado dos EUA para o manejo de plantas daninhas. Dayan et al. (2009) e Dayan e Duke (2010).

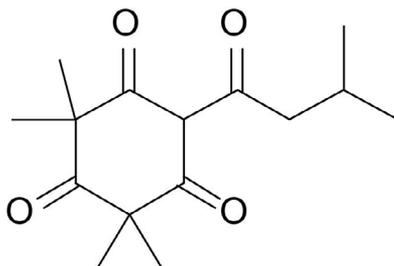
Nome comercial	Tipo	Concentração
Greenmatch EX	Óleo essencial de capim-limão	50%
Matran II	Óleo essencial de cravo-da-índia	50%
Weed Zap	Óleo essencial de cravo-da-índia/ canela	45/45%
Worry Free	Óleo essencial de citrus	70%
Organic Interceptor	Óleo essencial de pinus	0,7 kg/l
EcoExempt HC	2-phenethyl propionato/Óleo es- sencial de cravo-da-índia	24%/24%
Agralawn Crabgrass Kil- ler	Casca de canela	0,95%
Concern	Farelo de glúten de milho	100%

Continua...

**Tabela 1.** Exemplos de produtos naturais encontrados no mercado dos EUA para o manejo de plantas daninhas. Dayan et al. (2009) e Dayan e Duke (2010).

Nome comercial	Tipo	Concentração
BurnOut	Ácido acético	20-25%
Safer	Ácido graxo	22%

Um dos exemplos comercialmente mais relevantes é o óleo essencial extraído da árvore manuka (*Leptospermum scoparium* J. R. Forst & G. Forst, que pertence à família Myrtaceae) que contém leptospermona (Figura 4), uma substância alelopática que serviu de modelo para o análogo sintético mesotriona, um herbicida da classe de tricetonas (MITCHELL et al., 2001). Vários óleos essenciais das plantas originárias da Nova Zelândia e Austrália (*Leptospermum*, *Eucalyptus*, e *Callistemon* spp.) contêm as tricetonas naturais em concentrações relativamente altas. Dayan et al. (2011) e Mitchell et al. (2001) avaliaram a atividade pré e pós-emergente do óleo essencial de manuka. O óleo essencial de manuka potencializa a atividade herbicida de outros óleos essenciais como o de capim limão. Segundo os autores, mais pesquisas precisam ser feitas para determinar se o resultado desse efeito é de ação aditiva ou sinérgica. No entanto, a perspectiva da descoberta de atividade pré-emergente no óleo essencial de manuka, ou do princípio ativo, a leptospermona, é particularmente atraente. A descoberta acidental da atividade pré-emergente do óleo essencial de manuka e a caracterização da leptospermona com alguma persistência no solo apresentam uma infinidade de novas possibilidades.

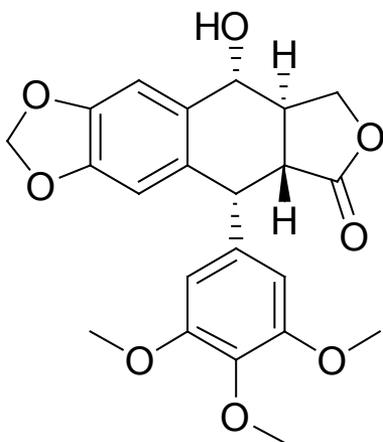


**Figura 4.** Estrutura química do leptospermona é um composto químico extraído da espécie *L. scoparium*, análogo, a mesotriona, hoje comercializado como herbicida.

Os compostos quassinóides são fitotoxinas encontradas em muitas plantas da família Simaroubaceae (HEISEY, 1990; LIN et al., 1995). Os quassinóides do tipo chaparrinona tem uma gama ampla de atividade herbicida quando aplicados como pré ou pós-emergentes. São compostos ativos nas concentrações de 1 a 5  $\mu\text{M}$ . Apresentam 100% de controle da gramínea *Setaria italica* (L.) P. Beauv. subsp. *viridis* (L.) Thell, assim como da leguminosa *Senna obtusifolia* (L.) H.S. Irwin & Barneby na concentração de 0,125  $\text{kg ha}^{-1}$ . Os quassinóides inibem a divisão celular nas fases finais da mitose. Segundo Morr e et al. (MORR E et al., 1998), o sítio de inibi o   a enzima NADPH-oxidase (nicotinamida adenina dinucleotídeo oxidase), mas a presença da ponte oximetileno entre o C8 e C11 nos quassinóides   necessária para a atividade herbicida.

Muitos compostos derivados de plantas inibem a mitose (VAUGHAN; VAUGHN, 1988); um exemplo   a podofilotoxina (Figura 5), encontrada nas folhas da mayapple (*Podophyllum peltatum* L., que pertence a família Berberidaceae) (CANEL et al. 2001; MORAES et al., 2000), que tem sido muito estudada como antiviral, pois inibe a forma o dos microtúbulos em células humanas (CANEL ET AL.,

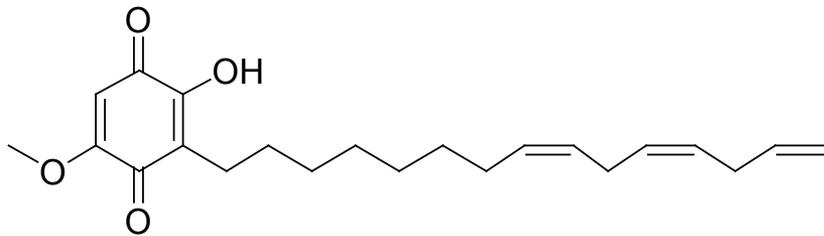
2000; IMBERT, 1998). Muitos derivados da podofilotoxina foram semi-sintetizados, como os quimioterápicos etoposide®, teniposide® e etopophos® que inibem a topoisomerase II e por isso são drogas potentes no tratamento de câncer (MORAES et al., 2000). Os testes de fitotoxicidade da podofilotoxina e análogos realizados por Oliva et al. (2002) mostraram que esse composto foi mais ativo contra a gramínea *Lolium multiflorum* Lam. do que a dicotiledônea *Lactuca sativa* L. (alface). A inibição das raízes nos bioensaios sugere que a podofilotoxina pode afetar tanto a divisão quanto a elongação celular.



**Figura 5.** Estrutura química da Podofilotoxina, composto encontrado nas folhas da espécie *Podophyllum peltatum* L. que pertence a família Berberidaceae.

Sorgoleone (Figura 6) é um aleloquímico exsudado pelas raízes de sorgo em gotas de óleo (FORNEY; FOY, 1985; NETZLY; BUTLER, 1986). As concentrações do sorgoleone nos solos com plantio de sorgo podem variar entre  $10^{-4}$  a  $10^{-5}$ M, inibindo o crescimento de plantas daninhas (NETZLY et al., 1988). Esta potente toxina inibe o crescimento do capim-colchão [*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.] (NIMBAL et al., 1996). A inibição do crescimento da parte aérea e das raízes foi observada em *Abutilon theophratis* Medik, família

Malvaceae, também conhecida como falsa-juta e também em capins do gênero *Echinochloa* spp. nas concentrações de 10 a 200  $\mu\text{M}$ . O sorgoleone inibe o transporte de elétrons na fotossíntese nos tilacoides por competir pelos sítios de ligações das plastoquinonas. Este composto tem o mesmo nível de inibição que o herbicida diuron (3-(3,4-diclorofenil)-1,1-dimetilureia) (GONZALEZ et al., 1997; NIMBAL et al., 1996).



**Figura 6.** Estrutura química do Sorgoleone, composto alelopático encontrado nas raízes de sorgo

A trepadeira anual *Ipomoea tricolor* Cav. pertencente à família das Convolvuláceas é uma planta usada na agricultura tradicional do México para o manejo de plantas daninhas.

*I. tricolor* produz uma resina que contém o composto tricolorin A, que é o princípio ativo responsável pela ação alelopática (PEREDA-MIRANDA et al., 1993). Este composto é altamente fitotóxico. Relatos etnobotânicos descrevem essa espécie como sendo conhecida pela medicina Asteca.

### 3. 2. Óleos essenciais com ação herbicida

Os óleos essenciais têm algum potencial como herbicidas, mas os surfactantes, que têm uso limitado em agricultura orgânica, são necessários na aplicação dos óleos essenciais. Segundo Dayan et al. (2009)

a maioria dos óleos essenciais comercializados como herbicidas naturais consiste em misturas que variam nas diferentes formulações. Os óleos essenciais comercializados atuam como herbicidas não seletivos de contato, que podem dar um bom controle de plantas daninhas, mas com efeito transitório. A eficácia desses produtos é limitada pelo fato de muitos compostos serem voláteis. Scarfato et al. (2007) produziram e caracterizaram microcápsulas para aplicação de óleos com redução de quantidades aplicadas, aumentando sua eficácia, reduzindo a volatilização e degradação e simplificando o manuseio do material.

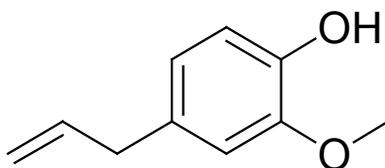
### **Óleo essencial de pinos (*Pinus taeda* L.; família Pinaceae)**

O óleo essencial de pinos é composto de terpenos e ácidos graxos saponificados e vendido como uma emulsão aquosa a 10% para o controle de planta daninha (DAYAN et al., 2009). Segundo Young (2004), o óleo essencial de pinos não resultou em bom controle de *Vicia villosa* Roth com uma única aplicação.

### **Óleo essencial de cravo-da-Índia (*Eugenia caryophyllus* Spreng; família Myrtaceae)**

O óleo essencial obtido por destilação a vapor das folhas de cravo (*E. caryophyllus*) contém, principalmente, eugenol (Figura 7) em conjunto com vários outros terpenóides. O óleo essencial de cravo é comercializado para controle de plantas daninhas em diferentes formulações. Por exemplo, Matran® contém até 50% de óleo essencial de cravo enquanto que o Weed Zap™ consiste numa mistura de óleo essencial de cravo com óleo essencial de canela (30%) e mais 70 % de vinagre. O óleo essencial de cravo aplicado em concentrações de 1-5% controla plantas daninhas em seu estágio inicial de desenvolvimento (TWORKOSKI, 2002). Se a concentração do óleo essencial de cravo for maior, o controle se torna caro

para a produção de vegetais (Dayan et al., 2009).



**Figura 7.** Estrutura química do eugenol, composto majoritário do óleo essencial extraído das folhas do cravo.

### **Óleo essencial de hortelã (*Mentha piperita* L. ; família Lamia- cea)**

O 2-fenetil propionato é um dos componentes do óleo essencial de hortelã que também é rico em mentol e mentona. O 2-fenetil propionato é encontrado em formulações com o óleo essencial de cravo e comercializados como Eco-Exempt™. Este composto é considerado muito seguro para o ambiente e para a saúde humana, pois é também usado em aromas alimentares (DAYAN et al., 2009).

### **Óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Sapt.; família Poaceae)**

O óleo essencial de capim limão, também conhecido como erva-cidreira ou capim santo, tem o citral como principal componente (80%). Um produto comercial contendo 50% de óleo essencial de erva-cidreira deve ser diluído para 7-15%, antes da aplicação. O óleo essencial de capim limão atua como um herbicida de contato; o citral não transloca, apenas queima as porções das plantas que receberam a solução de pulverização. A aplicação do óleo essencial de capim limão aparentemente fornece um controle das plantas

daninhas superior àquele obtido com a aplicação de produtos que contêm o d-limoneno de grau técnico sozinho, que remove a camada de cera cuticular das folhas das plantas tratadas, causando uma rápida desidratação e morte dos tecidos (DAYAN et al., 2009).

### **3.3 Farelo de milho (*Zea mays* L.) como herbicida**

O farelo de glúten do milho é um subproduto da moagem do milho. É comercializado tanto como um fertilizante quanto como um herbicida de pré-emergência para gramados e culturas orgânicas de alto valor comercial (MCDANDE; CHRISTIANS, 2000). Os produtos comerciais contêm entre 50% e 100% de glúten de milho e são vendidos nos EUA sob uma variedade de nomes comerciais (WeedBan™ e Corn Weed Blocker™). O controle de gramíneas e outras plantas daninhas exige quantidades elevadas do farelo de glúten, o que o torna proibitivo pelo custo. A hidrólise de glúten do milho é feita por microrganismos, processo que libera dipeptídeos e um pentapeptídeo fitotóxicos (LIU; CHRISTIANS, 1996; UNRUH et al., 1997). O modo exato de ação desses compostos não é conhecido, mas segundo Unruh et al. (1997) esses oligopeptídeos afetam a formação da parede celular e a integridade da membrana. Para Dayan et al. (2009), o glúten do milho pode ser considerado um pró-herbicida de liberação lenta, uma vez que deve ser hidrolisado para liberar os ingredientes ativos.

## **4. Fungicidas derivados de plantas**

### **4.1 Extratos de plantas com ação fungicida**

Produtos naturais para controle de patógenos de plantas têm sido tópicos de várias revisões (ENGELMEIER et al., 2006; KIM; HWA-NG, 2007). Muitos compostos naturais assim como extratos de

plantas com propriedades bactericidas e fungicidas já foram descritos na literatura. As plantas têm compostos de defesa constitutiva antimicrobiana e também induzidos contra ataques de patógenos (fitoalexinas). Segundo Dayan et al.(2009), as fitoalexinas não têm sido bem exploradas como agente protetor de culturas contra patógenos por mecanismo de indução da resistência sistêmica adquirida. Elictores são compostos que, quando aplicados em plantas, induzem resistência a doenças. Esse tipo de atividade indireta nas plantas faz com que o patógeno não desenvolva resistência direta aos elicitores. Assim, os elicitores são, portanto, ótimos candidatos ao manejo integrado de doenças. Por outro lado, os elicitores não são eficazes como fungicidas, pois a época de aplicação é fundamental para induzir a formação de compostos de defesa da planta e prevenir contra a ação de patógenos, e portanto, não havendo tempo suficiente de ação para combater a doença.

Milsana™ é o extrato da planta *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai da família Polygonaceae é muito usado na Europa para o controle de uma ampla gama de doenças de plantas causadas tanto por bactérias como por fungos. Esse extrato é usado tanto na agricultura convencional como na orgânica. Nos Estados Unidos, esse extrato é vendido como Regalia™ pela Marrone Organic Innovations. Apesar de serem extratos de plantas, agricultores de cultivo orgânico ainda não aceitam bem esse produto. Segundo Carlen et al. (2004), o extrato atua indiretamente no sistema de defesa da planta e os elicitores ativos deste extrato são emodina e fiscion.

Outro produto encontrado no mercado é o cinamaldeído ou aldeído cinâmico, que é um líquido amarelo oleoso encontrado na casca da caneleira e também nas sementes da leguminosa daninha *Senna obtusifolia*, uma fonte rica desse composto. De acordo com Bang et al.(2000), esse aldeído inibe a síntese de quitina na parede das células dos fungos, agindo assim como fungicida.

O extrato da planta *Macleaya cordata* (Willd.) R. Br., que pertence as Papaveraceas, é comercializado como fungicida (Qwel™). Segundo Newman et al. (1999), o controle de doenças feito pelo Qwel em estufas de plantas é semelhante à ação de fungicidas sintéticos. O preparado contém vários alcaloides que atuam como indutores da resistência adquirida.

#### 4.2 Óleos essenciais com ação fungicida

Vários óleos essenciais de plantas estão sendo comercializados para os agricultores de produtos orgânicos e entre os mais vendidos estão o óleo de jojoba (*Simmondsia californica* sin. *Simmondsia chinensis* (Link.) c. K. Scheneid., família Simmondsiaceae) (E-Rase™), óleo essencial de neem (*Azadirachta indica* A. Juss) (Triology™), óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.,) (Sporan™) e o óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris* L.) (Promax™). Apesar do uso desses óleos na agricultura orgânica, poucos estudos avaliaram os princípios ativos contra pragas agrícolas. De acordo com Isman (2000), a investigação sistemática das propriedades antifúngicas dos óleos essenciais e seus constituintes é anterior a avaliações das propriedades inseticidas. Kurita et al. (1981) selecionaram 40 desses compostos contra sete espécies de fungos (principalmente organismos de deterioração de alimentos), e Singh et al. (1980) rastrearam cinco óleos essenciais contra 22 espécies de fungos, incluindo tanto os tipos patogênicos aos humanos como os de plantas. Müller-Riebau et al. (1995) pesquisaram óleos essenciais contra quatro espécies de fungos patogênicos de plantas, enquanto que Wilson et al. (1997) pesquisaram 49 óleos essenciais contra o patógeno de frutos *Botrytis cinerea*. No estudo de Müller-Riebau et al. (1995), a atividade antifúngica foi fortemente associada com fenóis monoterpênicos, especialmente timol, carvacrol e o eugenol. Alguns dos óleos essenciais e componentes

foram também relatados como nematicidas (OKA et al., 2000). Comumente, alguns óleos essenciais apresentam, também, inibição eficaz da germinação de plantas com ação herbicida (DUDAI et al., 1999) e segundo Isman (2000), é preciso ter cuidado no uso agrícola de óleos essenciais para controle de doenças já que alguns apresentam propriedades herbicidas.

## **5. Inseticidas derivados de plantas**

### **5.1 Extratos de plantas com ação inseticida**

O uso de inseticidas naturais continua crescendo enquanto as vendas dos sintéticos organofosforados estão em declínio. Hoje, a cada cinco inseticidas vendidos, três são produtos naturais ou derivados de produtos naturais (NAUEN, 2006). Segundo Isman, (2006), existem quatro tipos majoritários de produtos de extrato de plantas com ação inseticida (piretro, rotenona, neem e óleos essenciais). Além desses inseticidas, há outros três com uso limitado (ryania, nicotina e sabadilha). No âmbito regional, os extratos de alho e de pimenta são também usados.

#### **Neem (*Azadirachta indica* A. Juss; família Meliaceae)**

Sementes da árvore *A. indica*, que pertence à família Meliaceae, são a fonte de dois tipos de inseticidas botânicos derivados do neem: o óleo essencial de neem e o extrato de polaridade mediana. As sementes de neem contêm azadiractina e vários compostos análogos. A azadiractina é um potente inseticida contra muitos insetos, ao nível fisiológico, atuando no bloqueio da síntese de hormônios de muda (ecdisteróides), levando à descamação dos insetos imaturos. Em insetos adultos do sexo feminino, esse composto conduz a esterilidade (COPPING; DUKE, 2007; ISMAN, 2006; NAUMANN; ISMAN, 1996). Muitos produtos à base de neem/azadiractina, popularmente conhecido no Brasil

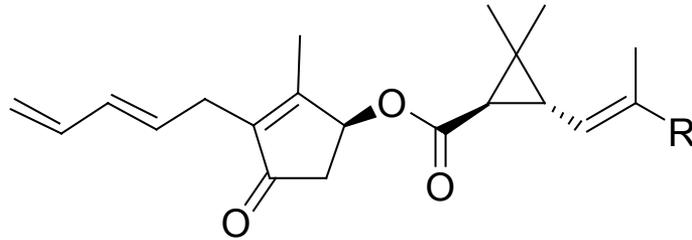
como Óleo de Neem (produto comercial) têm sido aprovados como inseticidas orgânicos e vêm sendo comercializados nos EUA como Ecozin, CE Azatrol e Agroneem (DAYAN et al., 2009). Os produtos à base de azadiractina são recomendados para o controle de insetos como pulgões, lagarta, brocas, besouros, cigarrinhas, minadores, gorgulho, mosca branca e outros. De acordo com Isman, (2006) a concentração dos ingredientes ativos nos produtos comerciais varia de 10 a 50 %.

**Piretro [(*Tanacetum cinerariifolium*) (Trevir.) Sch. Bip., sinônimo de *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trevir.) Vis.); família Asteraceae]**

Piretro refere-se à oleorresina extraída das flores secas de *T. cinerariifolium* e é a fonte das piretrinas. As flores são moídas, extraídas com hexano, que é removido, e o líquido alaranjado resultante contém os princípios ativos (COPPING; DUKE, 2007). Entre as piretrinas naturais, as piretrinas I e II (Figura 8), são as mais abundantes e responsáveis pela maior parte da atividade inseticida. É importante esclarecer que as piretrinas sintéticas não serão discutidas neste capítulo, sendo que o tópico por si valeria um artigo de revisão.

Os sintomas de intoxicação por piretrina são caracterizados por hiperexcitação, crises convulsivas, e, finalmente, seguido de morte (NAUMANN; ISMAN, 1996). Esses sintomas resultam da ação neurotóxica, com o consequente bloqueio dos canais de sódio. Infelizmente, as piretrinas são extremamente instáveis quando expostas ao ar e à luz ultravioleta; no entanto, esses compostos são recomendados para o controle de uma ampla gama de insetos e ácaros de frutos, culturas de campo, plantas ornamentais, e plantas em estufas. É também recomendado para a saúde pública, produtos armazenados, casas de animais e em animais domésticos e agrícolas. Piretro está aprovado no Ministério da Agricultura, Pe-

cuária e Abastecimento para utilização como um inseticida de largo espectro comercializado com diferentes nomes.



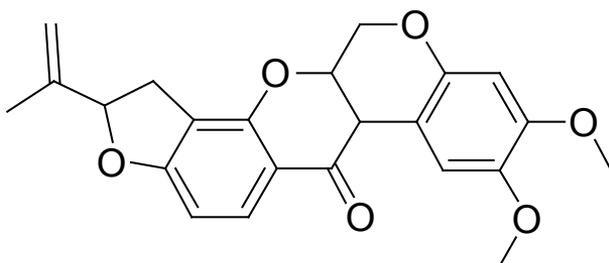
Piretrina I = CH<sub>3</sub>

Piretrina II = COOCH<sub>3</sub>

**Figura 8.** Estruturas dos compostos majoritários nos piretros.

### Rotenona

Há mais de um século a rotenona, Figura 9, tem sido utilizada como inseticida. Mais antigo é o uso como um veneno para peixe (CABONI ET AL., 2004; ISMAN, 2006). A rotenona é um dos vários isoflavonoides produzidos nas raízes das plantas do gênero *Deris*, *Lonchocarpus* e *Tephrosia*. Os produtos comerciais geralmente contêm o extrato de raiz de *Lonchocarpus utilis* sin. *Deguelia utilis* (A.C.Sm.) A. M. G. Azevedo e *L. urucu* (sin. *Deguelia rufescens* var. *urucu* (Killip & A. C. Sm.) A. M.G. Azevedo) procedentes da Venezuela e Peru. Embora a rotenona seja o principal constituinte, os extratos contêm uma segunda isoflavona, a deguelina, que também contribui significativamente para a atividade (CABONI ET AL., 2004; CHAUVIN ET AL., 2001; HOLLINGWORTH ET AL., 1994). A rotenona bloqueia a respiração pela inibição do transporte de elétrons no complexo I (ISMAN, 2006; NAUEN, 2006). Os produtos com rotenona são comercializados como inseticidas de largo espectro sob diferentes nomes comerciais (por exemplo, Bonide rotenona).



**Figura 9.** Estrutura química da rotenona encontrada em plantas do gênero *Lonchocarpus*.

### **Ryania (*Ryania speciosa* Vahl ; família Salicaceae)**

A Ryania é um inseticida obtido a partir das raízes e caules de uma espécie sul-americana (*R. speciosa*), e tem sido usado por mais de meio século. O extrato de *Ryania* contém até 0,16-0,2% do princípio bioativo, rianodina (COPPING; DUKE, 2007; ISMAN, 2006). A rianodina e análogos são eficazes por contato ou ingestão, afetam os músculos através da ligação aos canais de cálcio no retículo sarcoplásmico e a morte segue-se muito rapidamente (CASIDA et al., 1987; ISMAN, 2006). Ryania controla lagartas, besouros e trips sendo frequentemente usado em pomares. A toxicidade desses produtos é relativamente baixa para mamíferos. Os extratos de *Ryania* estão disponíveis comercialmente como inseticidas orgânicos, pelo menos por um fabricante nos EUA (Progressive Agri-Systems).

### **Sabadilha (*Schoenocaulon officinale* Schtdl. & Cham.) A. Gray ex Benth, família Melanthiaceae)**

A sabadilha é derivada a partir das sementes de plantas do gênero *Schoenocaulon*, predominantemente do lírio sabadilha (*S. officinale*). A sabadilha tem sido usada como um inseticida pelos povos nativos da América do Sul e Central. A atividade da sabadilha é atribuída aos alcaloides cevadina e veratridina, que existem tipi-

camente numa razão de 2:1 e são coletivamente referidos como veratrina (CASIDA et al., 1987). A veratrina de sabadilha tem modo de ação semelhante às piretrinas, ou seja, por contato. Os efeitos iniciais incluem paralisia seguida de morte (HARE; MORSE, 1997; IKAWA ET AL., 1945; ISMAN, 2006). A sabadilha tem sido utilizada comercialmente desde 1970, sendo aprovada para uso como inseticida orgânico nos EUA; é comercializada com o nome de “Red Devil” e “Natural Guard” para uso em muitas culturas. A sabadilha é considerada um dos menos tóxicos dentre os inseticidas botânicos, com uma DL50 oral de 4000-5000 mg kg<sup>-1</sup>. A sabadilha é eficaz por contato ou ingestão e tem sido eficaz contra lagartas, cigarrinha, trips e percevejos.

### **Nicotina (*Nicotiana* spp.; família Solanaceae)**

O extrato aquoso do tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) contém o alcaloide nicotina, muito utilizado para controlar pragas de várias culturas. O efeito inseticida da nicotina se assemelha à do acetilcolina, interagindo com receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChRs); que é um importante neurotransmissor excitatório do Sistema Nervoso Central do inseto (SNC). A acetilcolina livre se liga ao receptor nicotínico pós-sináptico da acetilcolina e ativa um canal de cátion intrínseco (YAMAMOTO, 1998). Os inseticidas, geralmente, são comercializados na forma de um concentrado líquido com 40% de sulfato de nicotina, e é diluído em água no momento do uso e pulverizado nas plantas. A nicotina é usada, principalmente, contra os insetos sugadores tais como afídeos, mosca branca, cigarrinha e trips (UJVÁRY et al. 1999). Infelizmente, a nicotina é altamente tóxica para os mamíferos, portanto, cuidados devem ser tomados com a absorção pela pele, uma vez que a nicotina é facilmente absorvida. Produtos orgânicos de nicotina estão disponíveis e aprovados para uso sob vários nomes (por exemplo, pó de tabaco).

## 5.2 Óleos essenciais com ação inseticida

Óleos essenciais de plantas e óleos de sementes prensadas compõem uma parte significativa da quota de mercado para inseticidas à base de produtos naturais, de acordo com o Instituto de Revisão de Materiais Orgânicos (OMRI), (ENGLISH, 2005). Não está dentro do escopo desta revisão a discussão de cada óleo essencial utilizado para proteção das culturas e as diferentes combinações. No entanto, o óleo essencial de alecrim, de tomilho, o eugenol e o óleo essencial de cravo são comumente usados como inseticidas e, por isso, serão brevemente discutidos abaixo. Muitos desses produtos à base de óleo também possuem atividade herbicida (ver Seção 3.2).

### **Óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.; família Lamiaceae)**

O óleo essencial de alecrim é obtido das flores frescas do *R. officinalis*, por destilação a vapor; essa espécie é nativa do Mediterrâneo. Como a maioria dos óleos essenciais, o óleo essencial de alecrim contém vários compostos voláteis, principalmente terpenóides. O óleo essencial de alecrim consiste essencialmente de 25% 1,8-cineol, além de borneol, cânfora e uma quantidade elevada de monoterpenoides (MAGGI et al., 2011). Muitos desses componentes possuem atividades inseticidas. O óleo essencial de alecrim é recomendado para o controle de pulgões, besouros, mosca-branca, ácaros, trips e larvas de lagartas; entre outros. Dentre os produtos disponíveis comercialmente que contém óleo essencial de alecrim, incluem-se os produtos múltiplos de EcoSmart Technologies, uma mistura de óleo essencial de alecrim (10%) e óleo essencial de hortelã-pimenta (2%) chamado de Ecotrol® CE inseticida/acaricida. O óleo essencial de alecrim é isento de registro pela EPA (Environmental Protection Agency), portanto, disponível para uso na agricultura orgânica nos Estados Unidos.

### **Óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris* L.; família *Lamiaceae*)**

O óleo essencial de tomilho é obtido de partes aéreas frescas e secas do *T. vulgaris*, e de outras espécies do mesmo gênero por destilação a vapor. Essa espécie também é nativa da região do Mediterrâneo e cultivada em várias partes do mundo. O óleo essencial de tomilho é composto de timol e carvacrol como principais constituintes, juntamente com vários monoterpênicos (DAYAN; DUKE, 2010). Os produtos de tomilho estão isentos de registro na EPA e, portanto, disponíveis para amplo espectro de uso no controle de insetos na agricultura orgânica .

### **Óleo essencial de cravo (*Eugenia caryophyllata* sin *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L. M. Perry; família *Myrtaceae*)**

O óleo essencial de cravo é obtido dos botões florais secos da árvore tropical *S. Aromaticum*; mas não é incomum que caule e folhas também sejam utilizados na produção do óleo essencial, que geralmente contém eugenol, acetato de eugenila e  $\beta$ -cariofileno (NESCI et al., 2011). Eugenol é um inseticida de contato de ação rápida, eficaz numa ampla variedade de pragas domésticas. É também usado para o controle de pragas em plantas ornamentais como a lagarta, trips, pulgões e ácaros.

### **Capsaicina**

A capsaicina é extraída de espécies do gênero *Capsicum* L., e muitas vezes é derivada de pimentas ardidas (*Capsicum frutescens*, uma espécie das solanáceas). A capsaicina é uma substância sólida à temperatura ambiente. Capsaicina é obtida por moagem das pimentas maduras (YANCOVA et al., 2009). Não se sabe se o con-

trole de pragas pelo uso de produtos de capsaicina deve-se aos efeitos inseticidas ou de repelência, pois ambos parecem contribuir. Produtos contendo capsaicina incluem o repelente Hot Pepper Wax da companhia Hot Pepper Wax, Inc. e também Hot Pepper da empresa Bonide nos Estados Unidos.

## Considerações Finais

Esta revisão teve por finalidade mostrar a diversidade química de produtos naturais como fonte de pesticidas, e as estratégias sendo adotadas no isolamento de compostos ativos usando bioensaios guiados. Hoje existe uma demanda pelo uso de produtos naturais nos sistemas agrícolas, tanto pelos agricultores ligados à agricultura convencional como pelos agricultores que demandam produtos para uso na agricultura orgânica.

## Referências

BAILEY, N. J. C.; STANLEY, P. D.; HADFIELD, S. T.; LINDON, J. C.; NICHOLSON, J. K. Mass spectrometrically detected directly coupled high performance liquid chromatography/nuclear magnetic resonance spectroscopy/mass spectrometry for the identification of xenobiotic metabolites in maize plants. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, London, v. 14, n. 8, p. 679-684, 2000.

BANG, K. H.; LEE, D. W.; PARK, H. M.; RHEE, Y. H. Inhibition of fungal cell wall synthesizing enzymes by trans-cinnamaldehyde. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, Abingdon, v. 64, n. 5, p. 1061-1063, 2000.

CABONI, P.; SHERER, T. B.; ZHANG, N.; TAYLOR, G.; NA, H. M.; GREENAMYRE, J. T.; CASIDA, J. E. Rotenone, deguelin, their metabolites, and the rat model of Parkinson's disease. **Chemical Research in Toxicology**, v. 17, n. 11, p. 1540-1548, 2004.

CANEL, C.; DAYAN, F. E.; GANZERA, M.; KHAN, I. A.; RIMANDO, A.; BURANDT JUNIOR, C. L.; MORAES, R. M. High yield of podophyllotoxin from leaves of *Podophyllum peltatum* by in situ conversion of podophyllotoxin 4-O- $\beta$ -D-glucopyranoside. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 67, n. 1, p. 97-99, 2001.

CANEL, C.; MORAES, R. M.; DAYAN, F. E.; FERREIRA, D. Molecules of interest: Podophyllotoxin. **Phytochemistry**, Oxford, v. 54, n. 2, p. 115-120, 2000.

CANTER, P. H.; THOMAS, H.; ERNST, E. Bringing medicinal plants into cultivation: Opportunities and challenges for biotechnology. **Trends in Biotechnology**, Amsterdam, v. 23, n. 4, p. 180-185, 2005.

CARLEN, C.; FABY, R.; KARJALAINEN, R.; POMMIER, J. J.; STEFFEK, R. Control of air borne disease in strawberries with natural and synthetic elicitors. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 649, p. 237-240, 2004.

CARROLL, J. F.; CANTRELL, C. L.; KLUN, J. A.; KRAMER, M. Repellency of two terpenoid compounds isolated from *Callicarpa americana* (Lamiaceae) against *Ixodes scapularis* and *Amblyomma americanum* ticks. **Experimental and Applied Acarology**, Dordrecht, v. 41, n. 3, p. 215-224, 2007.

CASIDA, J. E.; QUISTAD G. B. Golden age of insecticide research: past, present, or future? **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 43, p. 1-16, 1998.

CERDEIRA, A. L.; CANTRELL, C. L.; DAYAN, F. E.; BYRD, J. D.; DUKE, S. O. Tabanone, a new phytotoxic constituent of cogongrass (*Imperata cylindrica*). **Weed Science**, Gainesville, v. 60, n. 2, p. 212-218, 2012.

CHAUVIN, C.; OLIVEIRA, F. R. de.; RONOT, X.; MOUSSEAU, M.; LEVERVE, X.; FONTAINE, E. Rotenone inhibits the mitochondrial permeability transition-induced cell death in U937 and KB Cells. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 276, n. 44, p. 41394-41398, 2001.

CHOUDHARY, M. I.; ATTA-UR-RAHMAN, E. R. Bioactivity-guided phytochemicals isolation from medicinal plants. In: WRIGLEY, S.; HAYES, M. THOMAS, R.; CHRYSTAL, E. (Ed.). **Phytochemical diversity**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 1997. p. 41-52.

CONSTANT, H. L.; BEECHER, C. W. W. A method for the dereplication of natural product extracts using electrospray HPLC/MS. **Natural Product Letters**, Chur, v. 6, n. 3, p. 193-196, 1995.

COPPING, L. G.; DUKE, S. O. Natural products that have been used commercially as crop protection agents. **Pest Management Science**, West Sussex, v. 63, n. 6, p. 524-554, 2007.

DAYAN, F. E.; CANTRELL, C. L.; DUKE, S. O. Natural products in crop protection. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 17, n. 12, p. 4022-4034, 2009.

DAYAN, F. E.; DUKE, S. O. Natural products for weed management in organic farming in the USA. **Outlooks on Pest Management**, Burnham, v. 21, n. 4, p. 156-160, 2010.

DAYAN, F. E.; HERNANDEZ, A.; ALLEN, S. N.; MORAES, R. M.; VROMAN, J. A.; AVERY, M. A.; DUKE, M. A. Comparative phytotoxicity of artemisinin and several sesquiterpene analogues. **Phytochemistry**, Oxford, v. 50, n. 4, p. 607-614, 1999.

DAYAN, F. E.; HOWELL, J'L.; MARAIS, J. P.; FERREIRA, D.; KOIVUNEN, M. Manuka oil, a natural herbicide with preemergence activity. **Weed Science**, Gainesville, v. 59, n. 4, p. 464-469, 2011.

DUDAI, N.; POLJAKOFF-MAYBER, A.; MAYER, A. M.; PUTIEVSKY, E.; LERNER, H. R. Essential oils as allelochemicals and their potential use as bioherbicides. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 25, n. 5, p. 1079-1089, 1999.

DUKE, S. O. Herbicide and pharmaceutical relationships. **Weed Science**, Gainesville, v. 58, n. 3, p. 334-339, 2010.

DUKE, S.O.; DAYAN, F. E.; RIMANDO, A. M. Natural products and herbicide discovery. In: A.H. COBB, A. H.; KIRKWOOD, E. R. C. (Ed.). **Herbicides and their mechanisms of action**. Sheffield: Academic Press, 2000a. p. 105-133.

DUKE, S. O.; DAYAN, F. E.; RIMANDO, A. M.; SCHRADER, K. K.; ALIOTTA, G.; OLIVA, A.; ROMAGNI, J. G. Chemicals from nature for weed management. **Weed Science**, Gainesville, v. 50, n. 2, p. 138-151, 2002.

DUKE, S. O.; DAYAN, F. E.; ROMAGNI, J. G.; RIMANDO, A. M. Natural products as sources of herbicides: current status and future trends. **Weed Research**, Oxford, v. 40, n. 1, p. 99-111, 2000b.

DUKE, M. V.; PAUL, R. N.; ELSOHLY, H. N.; STURTZ, G.; DUKE, S. O. Localization of artemisinin and artemisitene in foliar tissues of glanded and glandless biotypes of *Artemisia annua* L. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 155, n. 3, p. 365-372, 1994.

ENGELMEIER, D.; HADACEK, E. F. Antifungal natural products: assays and applications. In: RAI, M.; CARPENELLA, E. M. C. (Ed.). **Advances in phytomedicine naturally occurring bioactive compounds**. Burlington: Elsevier Science, 2006. v. 3 p. 423-467.

ENGLISH, L. M. **Organic gardening-natural insecticides**: guide h-150. Las Cruces: New Mexico State University, 2005. 2 p. Disponível em: <<http://contentdm.nmsu.edu/utills/getdownloaditem/collection/AgCircs/id/37883/filename/38066.pdf-page/mapsto/pdf>>. Acesso em: 3 abr. 2013.

EVENSON, R. E.; GOLLIN, D. Assessing the impact of the green revolution, 1960 to 2000. **Science**, Washington, DC, v. 300, n. 5620, p. 758-762, 2003.

FORNEY, D. R.; FOY, C. L. Phytotoxicity of products from the Rhizospheres of a Sorghum-Sundangrass Hybrid (Sorghum bicolor x Sorghum sudanense). **Weed Science**, Gainesville, v. 33, n. 5, p. 597-604, 1985.

GHOSAL, S.; SINGH, S. K.; UNNIKRIISHNAN, S. G. Effects of stress on alkaloid metabolism in *Crinum asiaticum*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 29, n. 3, p. 805-811, 1990.

GONZALEZ, V. M.; KAZIMIR, J.; NIMBAL, C.; WESTON, L. A.; CHENIAE, G. M. Inhibition of a photosystem II electron transfer reaction by the natural product sorgoleone. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 45, n. 4, p. 1415-1421, 1997.

ESTADOS UNIDOS. **Food Quality Protection Act of 1996**: public law 104-170, 3 Aug. 1996. Disponível em: <<https://www.gpo.gov/fdsys/pkg/PLAW-104publ170/pdf/PLAW-104publ170.pdf>>. Acesso em: 2 jul. 2014.

HARE, J. D.; MORSE, J. G. Toxicity, persistence, and potency of sabadilla alkaloid formulations to Citrus Thrips (Thysanoptera: Thripidae). **Journal of Economic Entomology**, Oxford, v. 90, n. 2, p. 326-332, 1997.

HEISEY, R. M. Allelopathic and herbicidal effects of extracts from tree of heaven (*Ailanthus altissima*). **American Journal of Botany**, Lancaster, v. 77, n. 5, p. 662-670, 1990.

HOLLINGWORTH, R. M.; AHAMMADSAHIB, K. I.; GADELHAK, G.; MCLAUGHLIN, J. L. New inhibitors of Complex I of the mitochondrial electron transport chain with activity as pesticides. **Biochemical Society Transactions**, London, v. 22, n. 1, p. 230-233, 1994.

IKAWA, M.; DICKE, R. J.; ALLEN, T. C.; LINK, K. P. The principal alkaloids of Sabadilla seed and their toxicity to *Musca domestica* L. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 159, p. 517-524, 1945.

IMBERT, T. F. Discovery of podophyllotoxins. **Biochimie**, Amsterdam, v. 80, n. 3, p. 207-222, 1998.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 51, p. 45-66, 2006.

ISMAN, M. B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, Guildford, v. 19, n. 8-10, p. 603-608, 2000.

KIM, B. S.; HWANG, B. K. Microbial fungicides in the control of plant diseases. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 155, n. 11-12, p. 641-653, 2007.

KURITA, N.; MIYAJI, M.; KURANE, R.; TAKAHARA, Y. Antifungal activity of components of essential oils. **Agricultural and Biological Chemistry**, Tokyo, v. 45, n. 4, p. 945-952, 1981.

LANG-UNNASCH, N.; REITH, M. E.; MUNHOLLAND, J.; BARTA, J. R. Plastids are widespread and ancient in parasites of the phylum Apicomplexa. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 28, n. 11, p. 1743-1754, 1998.

LIN, L. J.; PEISER, G.; YING, B. P.; MATHIAS, K.; KARASINA, F.; WANG, Z.; ITATANI, J.; GREEN, L.; HWANG, Y. S. Identification of plant growth inhibitory principles in *Ailanthus altissima* and *Castela tortuosa*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 43, n. 6, p. 1708-1711, 1995.

LINDON, J. C.; NICHOLSON, J. K.; WILSON, I. D. The development and application of Coupled HPLC-NMR spectroscopy. **Advances in Chromatography**, New York, v. 36, p. 315-382, 1996.

LIU, D. L.; CHRISTIANS, N. E. Bioactivity of a pentapeptide isolated from corn gluten hydrolysate on *Lolium perenne* L. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v. 15, n. 1, p. 13-17, 1996.

MACIAS, F. A.; MOLINILLO, J. M. G.; GALINDO, J. C. G.; VARELA, R. M.; SIMONET, A. M.; CASTELLANO, D. The use of allelopathic studies in the search for natural herbicides. **Journal of Crop Production**, [S.l.], v. 4, n. 2, p. 237-255, 2001.

MCDANDE, M. C.; CHRISTIANS, N. E. Corn gluten meal-a natural preemergence herbicide: Effect on vegetable seedling survival and weed cover. **American Journal of Alternative Agriculture**, Greenbelt, v. 15, n. 4, p. 189-191, 2000.

MCKIERNAN, P. J. Nitisinone in the treatment of hereditary tyrosinaemia type 1. **Drugs**, Auckland, v. 66, n. 6, p. 743-750, 2006.

MAGGI, M.; GENDE, L.; RUSSO, K.; FRITZ, R.; EGUARAS, M. Bioactivity of *Rosmarinus officinalis* essential oils against *Apis mellifera*, *Varroa destructor* and *Paenibacillus* larvae related to the drying treatment of the plant material. **Natural Product Research**, Abingdon, v. 25, n. 4, p. 397-406, 2011.

MITCHELL, G.; BARTLETT, D. W.; FRASER, T. E. M.; HAWKERS, T. R.; HOLT, D. C.; TOWNSON, J. K.; WICHERT, R. A. Mesotrione: A new selective herbicide for use in maize. **Pest Management Science**, West Sussex, v. 57, n. 2, p. 120-128, 2001.

MORAES, R. M.; BURANDT JUNIOR, C.; GANZERA, M.; LI, X.; KHAN, I.; CANEL, C. The American mayapple revisited - *Podophyllum peltatum* - Still a potential cash crop? **Economic Botany**, New York, v. 54, n. 4, p. 471-476, 2000.

MORRÉ, D. J.; GRIECO, P. A.; MORRÉ, D. M. Mode of action of the anticancer quassinoids - Inhibition of the plasma membrane NADH oxidase. **Life Sciences**, Elmsford, v. 63, n. 7, p. 595-604, 1998.

MÜLLER-RIEBAU, F.; BERGER, B.; YEGEN, O. Chemical composition and fungitoxic properties to phytopathogenic fungi of essential oils of selected aromatic plants growing wild in Turkey. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 43, n. 8, p. 2262-2266, 1995.

NAUEN, R. Insecticide mode of action: Return of the ryanodine receptor. **Pest Management Science**, West Sussex, v. 62, n. 8, p. 690-692, 2006.

NAUMANN, K.; ISMAN, M. B. Toxicity of a neem (*Azadirachta indica* A. Juss) insecticide to larval honey bees. **American Bee Journal**, Hamilton, v. 136, n. 7, p. 518-520, 1996.

NESCI, A.; MONTEMARANI, A.; PASSONE, M. A.; ETCHEVERRY, M. Insecticidal activity of synthetic antioxidants, natural phytochemicals, and essential oils against an *Aspergillus* section *Flavi* vector (*Oryzaephilus surinamensis* L.) in microcosm. **Journal of Pest Science**, Heidelberg, v. 84, n. 1, p. 107-115, 2011.

NETZLY, D. H.; BUTLER, L. G. Roots of sorghum exude hydrophobic droplets containing biologically active components. **Crop Science**, Madison, v. 26, n. 4, p. 775-778, 1986.

NETZLY, D. H.; RIOPEL, J. L.; EJETA, G.; BUTLER, L. G. Germination stimulants of witchweed (*Striga asiatica*) from hydrophobic root exudate of sorghum (*Sorghum bicolor*). **Weed Science**, Gainesville, v. 36, n. 4, p. 441-446, 1988.

NEWMAN, S. E.; ROLL, M. J.; HARKRADER, R. J. A naturally occurring compound for controlling powdery mildew of greenhouse roses. **HortScience**, St Joseph, v. 34, n. 4, p. 686-689, 1999.

NIMBAL, C. I.; PEDERSEN, J. F.; YERKES, C. N.; WESTON, L. A.; WELLER, S. C. Phytotoxicity and distribution of sorgoleone in grain sorghum germplasm. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 44, n. 5, p. 1343-1347, 1996.

OKA, Y.; NACAR, S.; PUTIEVSKY, E.; RAVID, U.; YANIV, Z.; SPIEGEL, Y. Nematicidal activity of essential oils and their components against the root-knot nematode. **Phytopathology**, St Paul, v. 90, n. 7, p. 710-715, 2000.

OLIVA, A.; MORAES, R. M.; WATSON, S. B.; DUKE, S. O.; DAYAN, F. E. Aryltertralin lignans inhibit plant growth by affecting the formation of mitotic microtubular organizing centers. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, New York, v. 72, n. 1, p. 45-54, 2002.

PEREDA-MIRANDA, R.; MATA, R.; ANAYA, A. L.; WICKRAMARATNE, D. B.; PEZ-ZUTO, J. M.; KINGHORN, A. D. Tricolorin a, major phyto-growth inhibitor from *Ipomoea tricolor*. **Journal of Natural Products**, Cincinatti, v. 56, n. 4, p. 571-582, 1993.

QUEIROZ, S. C. N.; CANTRELL, C. L.; DUKE, S. O.; WEDGE, D. E.; NANDULA, V. K.; MORAES, R. M.; CERDEIRA, A. L. Bioassay-directed isolation and identification of phytotoxic and fungitoxic acetylenes from *Conyza canadensis*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 60, n. 23, p. 5893-5898, 2012.

RAGSDALE, N. N. Panel discussion: herbicides: issues and future directions. **Abstracts of Papers of the American Chemical Society**, Washington, DC, v. 227, p. U70-U70, 2004.

RIMANDO, A. M.; DAYAN, F. E.; CZARNOTA, M. A. WESTON, L. A. ; DUKE, S. O. A new photosystem II electron transfer inhibitor from *Sorghum bicolor*. **Journal of Natural Products**, Cincinatti, v. 61, n. 7, p. 927-930, 1998.

RIMANDO, A. M.; DAYAN, F. E.; MIKELL, J. R.; MORAES, R. M. Phytotoxic lignans of *Leucophyllum frutescens*. **Natural Toxins**, New York, v. 7, n. 1, p. 39-43, 1999.

ROMAGNI, J. G.; DUKE, S. O.; DAYAN, F. E. Inhibition of plant asparagine synthetase by monoterpene cineoles. **Plant Physiology**, Kutztown, v. 123, n. 2, p. 725-732, 2000a.

ROMAGNI, J. G.; MEAZZA, G.; NANAYAKKARA, N. P. D.; DAYAN, F. E. The phytotoxic lichen metabolite, usnic acid, is a potent inhibitor of plant p-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase. **FEBS Letters**, Amsterdam, v. 480, n. 2-3, p. 301-305, 2000b.

SCARFATO, P.; AVALLONE, E.; IANNELLI, P.; DE FEO, V.; ACIERNO, D. Synthesis and characterization of polyurea microcapsules containing essential oils with antigerminative activity. **Journal of Applied Polymer Science**, New York, v. 105, n. 6, p. 3568-3577, 2007.

SINGH, A. K.; DIKSHIT, A.; SHARMA, M. L.; DIXIT, S. N. Fungitoxic activity of some essential oils. **Economic Botany**, New York, v. 34, n. 2, p. 186-190, 1980.

SOBOLEV, V. S.; KHAN, S. I.; TABANCA, N.; WEDGE, D. E.; MANLY, S. P.; CUTLER, S. J.; COY, M. R.; BECNEL, J. J.; NEFF, S. A.; GLOER, J. B. Biological activity of peanut (*Arachis hypogaea*) phytoalexins and selected natural and synthetic Stilbenoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 59, n. 5, p. 1673-1682, 2011.

SOUZA, I. F.; EINHELLIG, F. A. Potencial alelopático da 2-Benzoxazolinona (BOA) e a sua interação com atrazine no crescimento de plantas. **Planta Daninha**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 2, p. 84-86, 1994.

TILMAN, D. The greening of the green revolution. **Nature**, London, v. 396, n. 6708, p. 211-212, 1998.

TWORKOSKI, T. Herbicide effects of essential oils. **Weed Science**, Gainesville, v. 50, n. 4, p. 425-431, 2002.

UNRUH, J. B.; CHRISTIANS, N. E.; HORNER, H. T. Herbicidal effects of the dipeptide alaninyl-alanine on perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) seedlings. **Crop Science**, Madison, v. 37, n. 1, p. 208-212, 1997.

UJVÁRY, I. Nicotine and other insecticidal alkaloids. In: YAMAMOTO, I.; CASIDA, J. E. (Ed.). **Nicotinoid insecticides and the nicotinic acetylcholine receptor**. Tokyo: Springer-Verlag, 1999. p. 29-69.

VAUGHAN, M. A.; VAUGHN, K. C. Mitotic disrupters from higher plants and their potential uses as herbicides. **Weed Technology**, Champaign, v. 2, n. 4, p. 533-539, 1988.

VIRTANEN, A. I.; HIETALA, P. K. Precursors of benzoxazolinone in rye plants. I. Precursor II, the aglucone. **Acta Chemica Scandinavica**, Copenhagen, v. 14, n. 2, p. 499-502, 1960.

YANKOVA, V.; MARKOVA, D.; TODOROVA, V.; VELICHKOV, G. Biological activity of certain oils in control of green peach aphid (*Myzus persicae* Sulz.) on pepper. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 830, p. 619-625, 2009.

YAMAMOTO, I. Nicotine: old and new topics. **Reviews in Toxicology**, [S.l.], v. 2, n. 1-4, p. 61-69, 1998.

YOUNG, S. L. Natural product herbicides for control of annual vegetation along roadsidesfull access. **Weed Technology**, Champaign, v. 18, n. 3, p. 580-587, 2004.

WILSON, C. L.; SOLAR, J. M.; EL GHAOUTH, A.; WISNIEWSKI, M. E. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. **Plant Disease**, St Paul, v. 81, n. 2, p. 204-210, 1997.

## Plantas com Atividade Inseticida

Lilia Aparecida Salgado de Moraes e Jeanne Scardini

Marinho-Prado

---

### Introdução

Inseticidas são definidos como substâncias químicas sintéticas, ou naturais, ou de origem biológica que controlam insetos. O controle pode resultar em morte do inseto ou prevenir comportamentos considerados destrutivos (WARE; WHITACRE, 2012).

O uso de inseticidas na agricultura ao longo dos anos tem se demonstrado uma ferramenta importante e indispensável para o aumento da produtividade, principalmente em grandes áreas de monocultivo. Esta relevância se deve à ocorrência de perdas significativas nas lavouras ocasionadas pelos insetos (SANTOS et al., 2007). A manutenção dos altos níveis de produtividade agrícola atual não seria possível sem o uso dos inseticidas sintéticos, o que demonstra que estes continuarão a ter um importante papel em programas de manejo integrado de pragas no futuro (HASSAN; PRIJONO, 2011).

Apesar da grande contribuição dos inseticidas sintéticos no aumento da produção agrícola, muitos problemas decorrentes do seu uso intensivo, incorreto e indiscriminado durante várias décadas consecutivas vieram a ocorrer. Dentre estes, pode-se citar a presença de resíduos tóxicos em alimentos, intoxicação de produtores rurais e consumidores, contaminação da água e do solo, seleção de pragas resistentes e prejuízos a populações de organismos não-alvo,

como os inimigos naturais, o que pode acarretar em aumentos na população de insetos-praga (COSTA et al., 2004; HASSAN; PRIJONO, 2011; KIM et al., 2003; MENEZES, 2005).

Nas últimas décadas, o grande desafio dos pesquisadores que trabalham com defensivos tem sido de reduzir perdas na agricultura, garantindo alimentos com a qualidade e em quantidade adequadas para uma população em constante crescimento.

Desde 2008, o Brasil passou a ser o maior consumidor de pesticidas do mundo, quando foram utilizadas mais de 700 mil toneladas de produtos sintéticos (PEDLOWSKI et al., 2012). Nos últimos 30 anos, o mercado de produtos para controle de pragas agrícolas tem mostrado um crescimento regular de 7-10% por ano, movimentando bilhões de dólares. Este crescimento vem sendo acompanhado por uma significativa reestruturação do setor industrial, ocasionada, dentre outros, pelas modificações no número e na natureza das moléculas inseticidas presentes no mercado. Os dois fatores que mais contribuíram para que esta mudança acontecesse foram o custo elevado para a obtenção dos registros e os vários casos de toxicidade relatados (REGNAULT-ROGER, 1997).

Atualmente, o uso de diversos inseticidas não é mais permitido em vários países, por apresentarem altos níveis de toxicidade ou por estes serem persistentes no ambiente. Esta proibição vem motivando a busca por novas moléculas, sejam estas naturais ou sintéticas, para controle de pragas de importância agrícola (SANTOS et al., 2007).

Na natureza, diversas substâncias químicas provenientes do metabolismo secundário de espécies vegetais desempenham um papel defensivo, inibindo a ação de insetos herbívoros, seja por inibir a alimentação, reduzir a oviposição, por prejudicar o crescimento larval (ISMAN, 2006), ou por atrair polinizadores ou inimigos naturais.

Estas substâncias são conhecidas como metabólitos secundários e apresentam uma grande diversidade estrutural. Sua biossíntese é determinada geneticamente, porém, fatores bióticos e abióticos podem influenciar direta ou indiretamente na sua produção. São encontrados em raízes, caules, folhas, flores, cascas, frutos, podendo variar a localização de biossíntese e de alocação entre as espécies, bem como ter a sua concentração diferenciada em função do estágio de desenvolvimento, época do ano, ritmo circadiano, sazonalidade, tratos culturais, interação inseto-planta, dentre outros fatores. A rota biossintética destes compostos é conhecida dos pesquisadores da área de produtos naturais, porém, os mecanismos que acarretam a biossíntese de determinado composto em detrimento de outro, na maioria dos casos, ainda necessitam ser elucidados. Vários estudos vêm sendo desenvolvidos nos últimos anos na intenção de descobrir quais são estes estímulos .

Dentre os metabólitos secundários com atividade inseticida, encontram-se óleos essenciais, que são misturas complexas de substâncias voláteis, podendo ser de natureza terpênica (SAITO; SCRAMIN, 2000), como os mono e sesquiterpenos, ou fenilpropanóides. Os monoterpenos são compostos lipofílicos que apresentam alto potencial para interferências tóxicas em processos bioquímicos básicos, ocasionando alterações fisiológicas e comportamentais em insetos (PRA-TES; SANTOS, 2009). Também são encontrados limonoides, furanocumarinas, cromenos, alcaloides e acetogeninas (VIEIRA et al. 2007).

Inseticidas vegetais têm sido apontados como alternativas promissoras aos inseticidas químicos sintéticos no manejo de pragas agrícolas, por apresentarem riscos reduzidos para o ambiente e para a saúde humana. Estas substâncias são mais rapidamente degradáveis que os compostos sintéticos, por muitos destes serem sensíveis à luz solar, à umidade ou ao calor.

Embora a literatura apresente um grande número de substâncias naturais com propriedades para controlar pragas de interesse agrícola, poucos são os produtos comerciais à base destes produtos disponíveis no mercado.

Neste capítulo serão abordadas as principais atividades inseticidas vegetais e seus mecanismos de ação, bem como um histórico do uso de defensivos, sem a pretensão de esgotar este extenso tema.

### **Histórico do uso de inseticidas**

O controle de insetos desde meados de 1800 dependeu principalmente de medidas físicas e culturais, e os poucos químicos usados tratavam-se de compostos inorgânicos (arsenicais, fluorados e outros). Os inseticidas botânicos vieram logo a seguir e se destacaram pela complexidade estrutural, alto potencial e seletividade; entretanto, apresentavam as desvantagens de serem caros, de pouca disponibilidade e fotolábeis (sensíveis à luz) (CASIDA; QUISTAD, 1998). Ainda assim, na primeira metade do século XX essas substâncias foram muito importantes no Brasil, que, nessa época, foi um grande produtor e exportador de inseticidas botânicos, como piretro, rotenona e nicotina (MENEZES, 2005). Os compostos inorgânicos e os orgânicos botânicos marcaram o que é chamada por alguns autores de a Primeira Geração de inseticidas (CASIDA; QUISTAD, 1998; FARIA, 2009).

A partir da década de 1920 houve a preocupação em elucidar moléculas e realizar a síntese de inseticidas orgânicos. Estruturas como a da piretrina (baseada no piretro), a da rotenona e a da veratridina foram descritas em 1924, 1932 e 1954, respectivamente, e renderam a cada um dos cientistas responsáveis por tais descobertas o Prêmio Nobel de Química (CASIDA; QUISTAD, 1998).

Na década de 1930 foi realizada, pela primeira vez, a síntese de um inseticida orgânico. A descoberta e a síntese de moléculas de ação inseticida desencadearam grande desenvolvimento das indústrias químicas, ocasionando surgimento de inúmeros produtos químicos. Em decorrência desse fato, os métodos de controle culturais, biológicos, físicos e o uso de produtos naturais, até então amplamente utilizados, perderam espaço e foram rapidamente substituídos devido à rápida ação e eficiência do novo método. O desenvolvimento de produtos químicos sintetizados marcou o início da Segunda Geração de inseticidas (CASIDA; QUISTAD, 1998; D'AMATO et al., 2002; FARIA, 2009). Os inseticidas da chamada Segunda Geração são de largo espectro e podem atingir tanto os organismos alvo, quanto outros neutros e até benéficos ao homem e à agricultura. Estão incluídos nessa geração os organoclorados, os organofosforados, os carbamatos e os piretroides (CASIDA; QUISTAD, 1998; FARIA, 2009).

Uma das substâncias sintéticas com ação inseticida mais importante, mais utilizada e mais estudada do século XX foi o organoclorado diclorodifeniltricloroetano (DDT). Othmar Zeidler, estudante alemão, obteve em 1874 a síntese do DDT, demonstrando apenas a descoberta da síntese de um novo composto orgânico, no campo da química pura, o que lhe rendeu o grau de PhD da Universidade de Strassburg (MARICONI, 1988; FARIA, 2009). As propriedades inseticidas do DDT foram descobertas somente em 1939 pelo entomologista suíço Paul Müller, o que lhe valeu posteriormente o Prêmio Nobel em Fisiologia e Medicina devido ao uso do DDT no combate à malária (MARICONI, 1988; para revisão, ver D'AMATO et al., 2002; FARIA, 2009). Müller contou com a colaboração de diversos químicos e entomologistas, tais pesquisadores estavam, em princípio, interessados na preservação da lã, para livrá-la do ataque das traças e de outros insetos. Müller continuou, então, seus estudos utilizando insetos que atacavam plantas, obtendo notáveis resultados no seu controle (MARICONI, 1988).

A descoberta do DDT levantou novos interesses pelos inseticidas, encaminhando as pesquisas dos químicos para o descobrimento de novas substâncias orgânicas, sintéticas, a serem utilizadas no lugar dos antigos inseticidas inorgânicos (arseniato e outros) (MARICONI, 1988). Os produtos de natureza orgânica (piretrinas, rotenóides e outros), de baixa toxicidade para os mamíferos, acabaram também perdendo espaço para as novas substâncias sintéticas por serem relativamente caros, escassos e se alterarem com facilidade (MARICONI, 1988).

Inicialmente, o DDT foi utilizado contra insetos transmissores de doenças humanas. Em 1942 os norte-americanos iniciaram uma grande aplicação de DDT, que foi muito utilizado durante a Segunda Guerra Mundial para combate e prevenção de tifo em soldados, que o utilizavam na pele para o combate a piolhos, e contra mosquitos (MARICONI, 1988; D'AMATO et al., 2002). Foi empregado, também, em programas de controle de doenças tropicais como a malária e a leishmaniose visceral no Brasil e no mundo. Em 1943 chegou o primeiro lote com amostras de DDT ao Brasil, no Instituto Biológico de São Paulo, com o nome comercial "Gerasol". Em 1945 iniciou-se a produção em larga escala do DDT, que passou a ser utilizado também na agropecuária (MARICONI, 1988).

Após o término da Segunda Guerra Mundial, diversos países organizaram grandes campanhas contra a mosca doméstica utilizando aplicações de DDT. Os resultados, em princípio, foram verdadeiramente espetaculares, mas em 1947 notou-se que havia três cidades da Itália e da Suécia onde o produto não matava mais o inseto, ficando posteriormente comprovado que essas moscas apresentavam resistência ao inseticida (MARICONI, 1988). O baixo custo e a alta eficiência do produto ocasionaram um uso excessivo do inseticida contra insetos, chegando-se a estimar que cada cidadão norte-americano tenha ingerido, em 1950, uma média de 0,28 mg por dia do produto, através da ingestão de alimentos (D'AMATO

et al., 2002). Em 1956 foi registrado o primeiro caso de uma praga agrícola resistente a inseticidas, tratava-se da lagarta *Heliothis virescens*, resistente ao DDT. Como consequência do uso indiscriminado de inseticidas orgânicos durante os anos de 1940 e 1950, houve a aplicação de doses cada vez maiores e mais frequentes de produtos cada vez mais fortes, gerando um grande gasto dos produtores e problemas com insetos tolerantes, ressurgimento de populações, surtos populacionais de pragas secundárias, resíduos tóxicos nos alimentos, contaminação do meio ambiente, etc. (Stern et al., 1959).

No auge do emprego do DDT, em 1962, Rachel Carson publicou o livro “Primavera Silenciosa”, no qual foram levantadas pela primeira vez preocupações em relação ao meio ambiente, com denúncias da autora aos riscos causados pelos organoclorados e, principalmente, pelo DDT (CARSON, 1962), levando à proibição desse produto em diversos países na década de 70. A Suécia foi o primeiro país do mundo a banir o DDT e outros inseticidas organoclorados (D’AMATO et al., 2002). No Brasil, o uso do DDT e de outros organoclorados foi proibido na agropecuária em 1985, mas continuou sendo usado para combater vetores de doenças como a malária e a leishmaniose. Apenas em 14 de maio de 2009, com a Lei no. 11.936, foi proibida em todo o território nacional a fabricação, a importação, a exportação, a manutenção em estoque, a comercialização e o uso de DDT. Segundo D’Amato et al. (2002), a proibição de organoclorados em vários países baseou-se: na formação de resíduos tóxicos na carne e no leite de animais domésticos; na sua acumulação após tratamentos repetidos; no prejuízo que a ocorrência destes resíduos acarretava às exportações de produtos de origem animal devido a medidas restritivas impostas por países importadores; e nas recomendações da FAO e OMS para que o uso de DDT e outros organoclorados fosse substituído por outros produtos.

Nas décadas de 1940 e 1950 a inovação e a rápida comercialização dos produtos foram muito incentivadas sem grandes preocupações acerca da segurança; por isso, muitos desses inseticidas foram registrados com base em dados de toxicidade aguda (oral e dermal) obtidos da análise superficial de poucos animais (CASIDA; QUISTAD, 1998). A partir dos anos 1990 deu-se início à Terceira Geração de inseticidas, com o desenvolvimento de moléculas mais específicas e menos agressivas ao meio ambiente. A partir de então, houve maior preocupação acerca da segurança toxicológica de novos produtos, com o refinamento de critérios para o estudo sobre possíveis efeitos tóxicos de novos inseticidas exigidos para o seu registro. Incluem-se no grupo da Terceira Geração os reguladores de crescimento de insetos, os inibidores da respiração celular, os neonicotinoides, etc. (CASIDA; QUISTAD, 1998; FARIA, 2009).

No Brasil, a Lei de Agrotóxicos e Afins, nº 7.802, data de 11 de julho de 1989 e estabelece que os agrotóxicos somente podem ser utilizados no país se forem registrados em órgão federal competente, de acordo com as diretrizes e exigências dos órgãos responsáveis pelos setores da saúde, do meio ambiente e da agricultura. Neste sentido, o Decreto nº 4.074, de 04 de janeiro de 2002, que regulamentou a Lei, estabelece as competências para os três órgãos envolvidos no registro: Ministério da Saúde (MS), através da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e Ministério do Meio Ambiente (MMA), através do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). A classificação toxicológica dos agrotóxicos no Brasil está a cargo do Ministério da Saúde e se baseia na Dose Média Letal ( $DL_{50}$ ) por via oral, representada por miligramas do ingrediente ativo do produto por quilograma de peso vivo, que corresponde à dose necessária para matar 50% da população de ratos ou de outro animal-teste. Por determinação legal,

todo produto deve conter em seu rótulo uma cor indicativa da sua classe, conforme a Tabela 1.

**Tabela 1.** Classes toxicológicas dos agrotóxicos com base na DL<sub>50</sub>.

Classe	Classificação	Cor da faixa no rótulo da embalagem
I	Extremamente tóxico (DL50 menor que 50 mg/kg de peso vivo)	Vermelho vivo
II	Altamente tóxico (DL50 de 50 mg a 500 mg/kg de peso vivo)	Amarelo intenso
III	Medianamente tóxico (DL50 de 500 mg a 5.000 mg/kg de peso vivo)	Azul intenso
IV	Pouco tóxico (DL50 maior que 5.000 mg/kg de peso vivo)	Verde intenso

A Quarta Geração de inseticidas é chamada de “era de ouro” da engenharia genética. Essa metodologia abre espaço a novas possibilidades, como o desenvolvimento de novas moléculas inseticidas e a produção de proteínas e peptídeos inseticidas a partir de bactérias e baculovírus, e a inserção destes nos sistemas das plantas, ou seja, no desenvolvimento de plantas geneticamente modificadas (CASIDA; QUISTAD, 1998; FARIA, 2009).

Atualmente é crescente a preocupação da sociedade sobre a ingestão de produtos contaminados por agrotóxicos, o que pressiona ainda mais a busca por produtos mais seguros ao meio ambiente e ao homem. Entretanto, o que se vê é ainda o uso abusivo e inadequado dos agrotóxicos. O Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), desenvolvido pela ANVISA, no ano de 2010 analisou 2.488 amostras de 18 alimentos (abacaxi, alface, arroz, batata, beterraba, cebola, cenoura, couve, feijão, laranja, maçã, mamão, manga, morango, pepino, pimentão, repolho e tomate) obtidos em supermercados em todo o país. Como resultado das análises realizadas, apenas 37% dessas amostras esta-

vam livres de resíduos de agrotóxicos, em 35% havia quantidade satisfatória de resíduos e 28% das amostras apresentava condição insatisfatória, com excesso de resíduos, sendo que, nestas, houve constatação de agrotóxicos não autorizados para a cultura em 605 amostras, correspondendo a 24,3% do total. Dos 17 principais ingredientes ativos com uso irregular detectados em amostras insatisfatórias, 14 são inseticidas, sendo organofosforados o principal grupo químico, seguido pelos piretróides (PROGRAMA DE ANÁLISE DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ALIMENTOS, 2011).

### **Classificação e descrição dos inseticidas orgânicos**

Os principais grupos de inseticida são: inorgânicos, orgânicos, organoclorados, organofosforados, carbamatos, formamidas, fenbutatinas, biológicos e piretróides (BOHMONT, 2000; GALLO et al., 2002).

Os inseticidas botânicos fazem parte do grupo de inseticidas orgânicos. O principal entrave à chegada dos inseticidas botânicos ao mercado é o registro, pois, em geral, não se trata de uma única substância, mas de um complexo de substâncias quimicamente similares, mas com estruturas moleculares diferentes, de maneira que as instituições de registro em todos os países solicitam a identificação de todas essas substâncias e seus correspondentes testes toxicológicos (MENEZES, 2005). Desta lista o Piretro e a Azadiractina possuem monografia autorizada pela ANVISA (ANVISA, 2012). Os principais representantes do grupo são:

- » Piretro e piretrinas - O piretro, também conhecido por pó da Pérsia, já era utilizado contra insetos desde 1800 e é obtido da trituração de flores de algumas plantas pertencentes ao gênero *Chrysanthemum* (família Compositae), principalmente as espécies *C. cinerariaefolium* e *C. coccineum*. O pó piretro contém

as seguintes substâncias inseticidas (ésteres): piretrina I, piretrina II, jasmolina I, jasmolina II, cinerina I e cinerina II (ANVISA, 2012). O piretro é um inseticida de contato, embora possua um certo poder de ingestão. As piretrinas são consideradas mais tóxicas para os insetos do que a nicotina, mas possuem algumas desvantagens como: alto preço, rápida decomposição quando expostas ao ar, e os concentrados são de difícil conservação prolongada (por mais de um ano). Essas substâncias são facilmente absorvidas pela cutícula dos insetos ou pelos espiráculos - por isso os insetos de tegumento mole são mais sensíveis à sua ação do que os de tegumento mais endurecido, como os besouros - e agem sobre o sistema muscular, provocando morte por paralisia. Apresentam pouco perigo para os mamíferos e, em geral, não são tóxicas às plantas (MARICONI, 1988). Classificação toxicológica: Classe III (ANVISA, 2012).

- » Rotenona e outros rotenóides – Foram utilizados como inseticidas pela primeira vez, provavelmente, em 1848, mas o uso das plantas fornecedoras para o envenenamento de peixes é empregado há muitos séculos. Somente em 1902 a rotenona foi isolada e os inseticidas à base dessa substância passaram a ser comuns somente depois da I Guerra Mundial. São encontrados em grande número de plantas pertencentes aos gêneros *Tephrosia*, *Derris*, *Lonchocarpus*, *Millettia*, *Sphatolobus* e *Pachyrhizus* (família Leguminosae), principalmente nas espécies *D. elliptica*, *L. utilis* e *L. urucu*, sendo as duas últimas as principais fontes de rotenona e rotenóides na América do Sul, as quais são conhecidas no Brasil como timbó. Nas raízes de plantas do gênero *Derris* (família Fabaceae) encontram-se seis substâncias denominadas rotenoides: rotenona, eliptona, sumatrol, malacol, 1-alfa-toxicarol e deguelim; sendo a rotenona de cinco a dez vezes mais tóxica do que as demais. A rotenona possui ação por

contato e ingestão, podendo penetrar pelo canal alimentar, traqueias e tegumento dos insetos, possui maior toxicidade para mamíferos do que as piretrinas. Devido à rápida decomposição, a rotenona não deixa resíduos tóxicos (MARICONI, 1988).

- » Riânia e rianodina – Desconhecidas no mercado brasileiro, ocorrem nos galhos e raízes de arbustos e pequenas plantas pertencentes ao gênero *Ryania* (família Flacourtiaceae), encontrado no norte da América do Sul e Bacia Amazônica, sendo a principal fonte a espécie *R. speciosa*. O princípio ativo é uma mistura de diversos alcalóides dos quais, o mais importante é a rianodina. Possui ação de contato e por ingestão, entretanto a intoxicação é lenta, na qual primeiramente o inseto perde a locomoção e depois pode permanecer semi-moribundo por diversos dias. A rianodina é mais estável à ação da luz e do ar do que piretrinas e rotenona e é tóxica para animais de sangue quente (MARICONI, 1988).
- » Sabadilha – A cevadina e a veratridina são os compostos derivados das plantas conhecidas como sabadilhas, do gênero *Schoenocaulon* (família Liliaceae) e seu uso como inseticida data de antes do início do século XX, no México. A ação inseticida se deve a um grupo complexo de alcalóides presente nas sementes da planta. Teve grande importância no combate a percevejos na agricultura e é menos tóxica para mamíferos do que a rotenona, embora tenha o efeito residual maior do que essa e o piretro (MARICONI, 1988; MENEZES, 2005).
- » Nicotina – Inseticida por ingestão, fumigação e, principalmente, de contato. Foi utilizada como inseticida pela primeira vez em 1690 na França sob a forma de lavagem de fumo; entretanto, o alcalóide puro foi isolado pela primeira vez somente em 1828 e sintetizado em 1904. A nicotina é neurotóxica, sendo uma análoga da acetilcolina, o principal neurotransmissor excitatório no

sistema nervoso central dos insetos (MENEZES, 2005). A nicotina ocorre em mais de 15 espécies do gênero *Nicotiana* (família Solanaceae), havendo também a presença dessa substância em algumas outras plantas, sendo obtida principalmente das espécies *N. tabacum* e *N. rústica*. Nas folhas dessas plantas, a riqueza de alcalóide cresce da região baixa para os ponteiros e, numa mesma folha, o teor de nicotina cresce da base para a ponta e da nervura principal para os bordos. É muito tóxica para os mamíferos, por via oral ou pela pele, por onde é facilmente absorvida. A toxicologia e farmacologia da nicotina, nornicotina e anabasina são muito semelhantes, os sintomas de envenenamento aparecem muito rapidamente e compreendem dor de cabeça, náusea, vômitos, visão e audição perturbadas, confusão mental, respiração rápida, prostração, convulsão e morte. A nicotina age ainda como fumigante, principalmente quando aplicada em estufas. Possui rápida volatilização (em 24 horas já não se encontra mais o produto aplicado) e, por isso, é pouco tóxica às plantas (MARICONI, 1988).

- » *Azadiractina* – É um princípio ativo de amplo espectro de ação inseticida, com classificação toxicológica II, autorizado para aplicação foliar na cultura de alface, café, citros, coco, crisântemo, fumo, mamão, melão, morango, pimentão, repolho e tomate. É derivado de diferentes partes da planta *Azadirachta indica*, popularmente conhecida como nim, originária da Índia (MENEZES, 2005). *Azadiractina* é o termo aplicado a um grupo de compostos limonóides com ação inseticida, extraídos de sementes da árvore nim. O grupo de compostos não é completamente identificável e quantificável e, assim, a *Azadiractina A* refere-se ao principal composto do grupo sendo utilizada para identificação e quantificação (ANVISA, 2012).

## **Atividade Inseticida de plantas e seus mecanismos de ação**

O uso de produtos derivados de plantas no controle de pragas na agricultura é relatado na literatura há pelo menos dois mil anos, em países como China, Egito, Índia e Grécia (THACKER, 2002). Na primeira metade do século 20, o Brasil foi um grande exportador destes produtos naturais, conhecidos como inseticidas botânicos, como piretro, nicotina e rotenona. Os produtos naturais tinham muita importância entre as décadas de 1930 e 1940, sendo o uso destes uma prática comum (MENEZES, 2005). Com o advento dos pesticidas sintéticos, estas práticas foram substituídas por produtos comerciais, com ação mais rápida.

O retorno do interesse pelos inseticidas botânicos é uma resposta à necessidade de buscar novas substâncias no controle de pragas, que não acarretem danos ao ambiente, resíduos em alimentos, efeitos nocivos sobre organismos não-alvo, que não cause ou retarde o surgimento de resistência, aspectos facilmente observados nos agrotóxicos (VENDRAMIM; CASTIGLIONI, 2000). Diversas pesquisas vem demonstrando a ação inseticida de produtos naturais e alguns destes resultados encontram-se transcritos a seguir.

### **1. Óleos essenciais e seus compostos químicos**

Óleos essenciais são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, com baixo peso molecular, geralmente odoríferas e líquidas, constituídos na maioria das vezes, por moléculas de natureza terpênica. Frequentemente apresentam odor agradável e marcante (SAITO; SCRAMIN, 2000; SIMÕES; SPITZER, 1999).

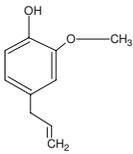
São extraídos das partes vegetais através de arraste à vapor d' água, hidrodestilação ou expressão de pericarpo de frutos cítricos, porém há outros métodos de extração como a *enfleurage*, extração por CO<sub>2</sub> supercrítico, técnica muito utilizada na indústria. Apresentam grande afinidade por solventes orgânicos apolares, porém, o óleo essencial extraído deste modo não apresenta valor comercial. Em temperatura ambiente apresentam aspecto oleoso, tendo como principal característica a volatilidade (SAITO; SCRAMIN, 2000; SIMÕES; SPITZER, 1999).

Segundo Cosimi et al. (2009) e Renault-Roger (1997), plantas aromáticas e seus óleos essenciais são os mais eficientes inseticidas vegetais, pois estes, muitas vezes constituem a fração ativa dos extratos vegetais. São reconhecidos como uma importante fonte natural de moléculas promissoras.

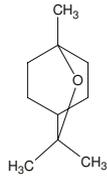
Pode-se observar diversas maneiras de expressão da atividade inseticida pelos óleos essenciais. Estes podem agir causando mortalidade, deformações nos diferentes estágios de desenvolvimento, repelência e deterrência. A atividade repelente mostra-se como o modo de ação mais comum dos óleos essenciais e de seus componentes majoritários. Os óleos essenciais também agem em enzimas digestivas e neurológicas, além de interagir com o tegumento do inseto (ISMAN, 2006).

Estudos realizados por Kim et al. (2003), relataram a relevância da afinidade entre a estrutura química e atividade biológica das substâncias. Quanto maior a capacidade do composto em se ligar à camada lipídica (lipofilicidade), maior será a penetração deste no tegumento do inseto. Estes podem ter ação fumigante, podem penetrar no interior do corpo do inseto como inseticida de contato, agir como repelentes, deterrentes ou afetar parâmetros biológicos e interferir na reprodução dos insetos.

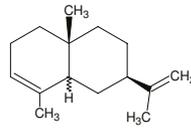
A estrutura química de alguns constituintes dos óleos essenciais encontra-se representada na figura 1.



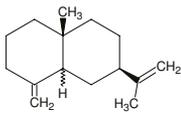
Eugenol



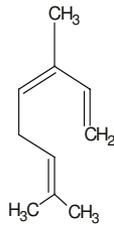
1,8 cineol



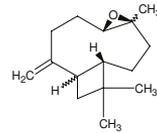
Alfa-selineno



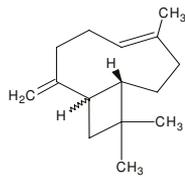
Beta-selineno



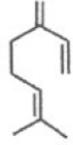
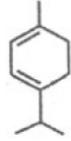
Cis-ocimeno



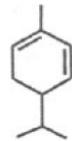
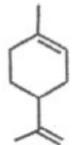
Óxido de cariofileno



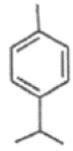
Trans-cariofileno

 $\alpha$ -Terpineno

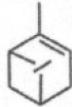
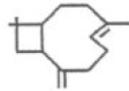
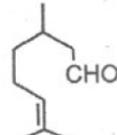
Mirceno

 $\alpha$ -Felandreno

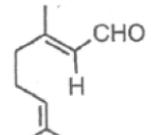
Limoneno



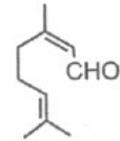
p-Cimeno

 $\alpha$ -CimenoCariofileno  
(Geranial)

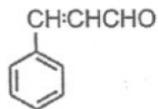
Citronelal



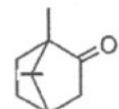
Citral



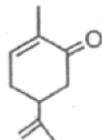
Citral (Neral)



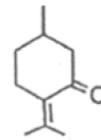
Cinamalaldeído



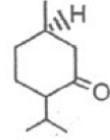
Cãnfora



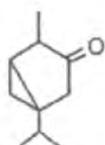
Carvona



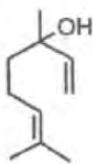
Pulejona



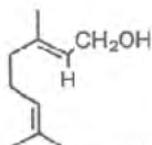
Mentona



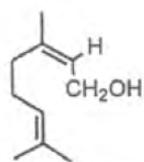
Tujona



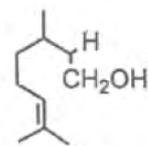
Linalol



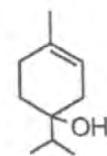
Geraniol



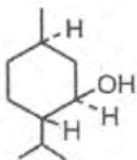
Nerol



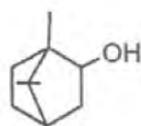
Citronelol



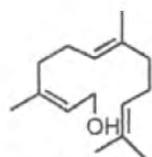
Terpinen-4-ol



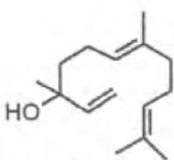
Mentol



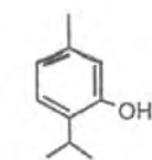
Borneol



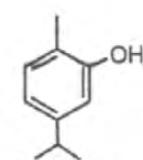
Farnesol



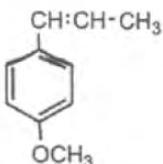
Nerolidol



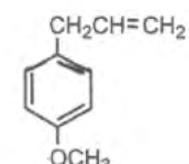
Timol



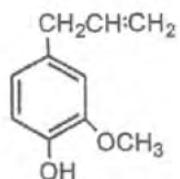
Carvacrol



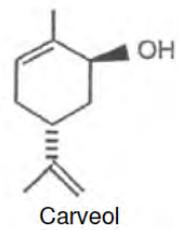
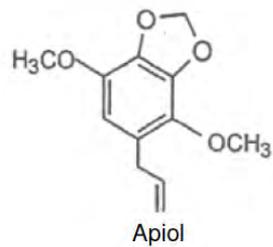
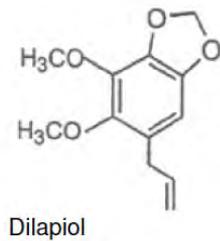
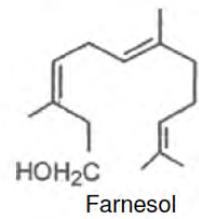
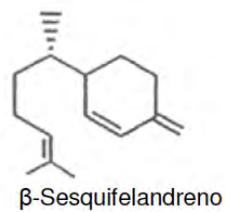
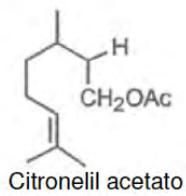
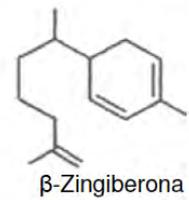
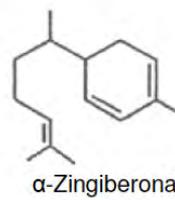
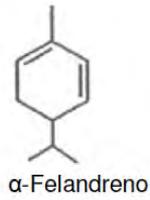
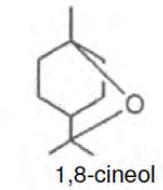
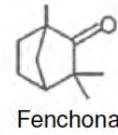
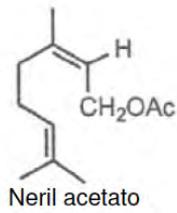
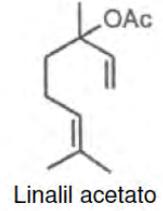
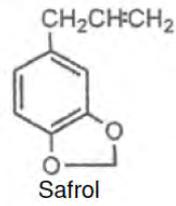
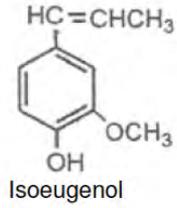
Anetol

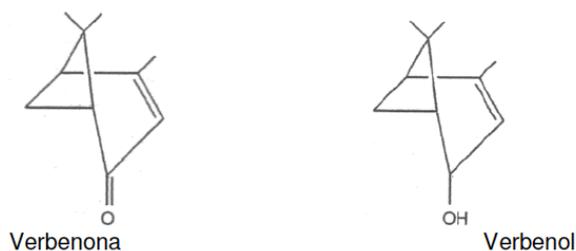


Estragol



Eugenol





**Figura 1.** Estruturas químicas de alguns compostos de óleos essenciais com atividade inseticida. Fonte: adaptado de Morais (2009).

Os óleos essenciais com atividade inseticida apresentam ação fumigante e de contato sobre diversas pragas (ISMAN, 2000), o que tem chamado a atenção dos pesquisadores. A ação rápida contra algumas pragas é indicativa de um modo de ação neurotóxico, e há evidências de interferência na octopamina neuromoduladora por alguns óleos essenciais (KOSTYUKOVSKY et al., 2002).

Simas et al. (2004), realizaram ensaios para avaliar a susceptibilidade de alguns compostos de óleos essenciais sobre larvas de terceiro ínstar de *Aedes aegypti* (L.). Os resultados apresentaram CL 50 de 49,0 ppm para o safrol, 44,5 ppm para o eugenol e de 24,4 ppm para o aldeído cinâmico. Aparentemente um modo de ação com menor afinidade com o núcleo, como o do aldeído cinâmico, provavelmente contribua mais para a atividade larvicida observada.

Ensaio foram realizados por Ilboudo et al. (2010) para verificar a atividade inseticida e a persistência dos óleos essenciais extraídos de *Ocimum americanum*, *Hyptis spicigera*, *Hyptis suaveolens* e *Lippia multiflora* sobre *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) em sementes de feijão caupi (*Vigna unguiculata*). Os resultados demonstraram que o óleo essencial de *O. americanum* apresentou atividade inseticida, matando todos

os insetos em concentração inferior a 0,5µl/l. Com relação à persistência, o óleo essencial de *O. americanum* destacou-se dos demais óleos essenciais testados, uma vez que quase todos os insetos foram mortos mesmo após quatorze dias da aplicação do óleo essencial, observando-se redução da sua ação inseticida após 18 dias de aplicação. Os autores associam esta forte atividade inseticida à presença do composto majoritário 1,8 cineol, baseando-se nos resultados apresentados por Djibo et al. (2004).

Resultados divergentes no tocante à composição química da mesma espécie foram encontrados por Shadia et al. (2007). Segundo estes autores, a espécie *O. americanum* apresenta três quimiotipos: floral-cítrico, cânfora e "spicy". A análise da composição química do óleo essencial de *O. americanum*, extraído em duplicata em duas diferentes estações do ano, identificou como compostos majoritários o eugenol (28%), seguido pelo metilchavicol (17,3 %), terpineol (15%). Farneseno foi identificado como o principal sesquiterpeno (9,2%) seguido do alfa-bisaboleno (4,5 %). O percentual de linalol e cânfora não ultrapassou 2%. A divergência entre os compostos majoritários da mesma espécie pode ser um indicativo de que se tratam de quimiotipos diferentes, o que pode explicar divergências na atividade inseticida.

Shadia et al. (2007), também avaliaram a atividade inseticida de óleos essenciais de *Ocimum americanum* e do eugenol, composto majoritário, sobre *Agrotis ipsilon* em laboratório e semi-campo. Houve uma correlação positiva entre a concentração e o percentual de mortalidade de larvas e má formação de pupas e adultos. Apenas 35% das larvas submetidas ao óleo essencial de *O. americanum* em concentração de 3% empuparam e, 13% destas encontravam-se deformadas. Dos tratamentos que receberam apenas o eugenol apresentou 40% de mortalidade das larvas. O peso das pupas foi significativamente inferior ao apresentado pelo controle.

Em condições de semi-campo, os mesmos autores observaram que o óleo essencial apresentou-se mais eficiente na longevidade de adultos quando comparado ao composto eugenol. Estes concluíram que a espécie vegetal *O. americanum* apresenta atividade repelente sobre a traça *A. ipsilon*, com 66,4 e 35,95% de repelência na concentração de 3% para o óleo essencial e o eugenol, respectivamente, nos aspectos biológicos ensaiados. Este resultado comprova que o efeito sinérgico entre os componentes do óleo essencial de *O. americanum* apresentam maior atividade repelente sobre *A. ipsilon* que o composto majoritário isolado (SHADIA et al., 2007).

Kim et al. (2010) avaliaram a atividade tóxica e a repelência do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) sobre adultos de *Tribolium castaneum*. Estes insetos são popularmente conhecidos como carunchos e são pragas secundárias que infestam produtos armazenados. A análise da composição química do óleo essencial apresentou nove compostos, sendo os majoritários o carvacrol (67%), p-cimeno (16%), gama-terpineno (5,5%) e timol (4,9%). Os demais componentes foram o óxido de cariofileno, canfeno, alfa-pineno, mirceno e linalol. Nos testes de repelência, o óxido de cariofileno apresentou repelência total na concentração de 0,03 mg/cm<sup>2</sup>. Em ensaio de atividade inseticida, a fumigação por vapor, o óleo essencial de orégano apresentou melhores resultados em ambiente fechado, sendo a DL50 = 0,055mg/cm<sup>3</sup>.

A atividade inseticida dos óleos essenciais de funcho (*Foeniculum vulgare*), alecrim (*Rosmarinus officinalis*) e verbena (*Lippia citriodora*) sobre o gorgulho do trigo (*Sitophilus granarius* Coleoptera: Curculionidae) foi testada por Zoubiri e Baaliouamer (2011). Os insetos adultos foram expostos por um a cinco dias aos tratamentos, que consistiram em papel de filtro contendo 5, 50 e 500 µL/L de óleo essencial. Os resultados obtidos demonstraram que, nos testes para determinação da mortalidade cumulativa (24-120h), o óleo essencial de *R. officinalis* apresentou os melhores resultados (59%

de mortalidade após 24h, na concentração de 500  $\mu\text{L/L}$ ). Para o tempo de 120h, todos os óleos essenciais testados apresentaram 50% de mortalidade na concentração de 5  $\mu\text{L/L}$ . O controle total pode ser alcançado através de fumigação por 120 horas, utilizando-se a concentração de 50  $\mu\text{L/L}$  de óleo essencial de *F. vulgare* e *R. officinalis*. Segundo os autores, ensaios de campo com formulações adequadas devem ser realizados a fim de avaliar a eficácia destes óleos essenciais, o que seria interessante para determinar a concentração mais baixa em que estes ainda apresentam atividade como fumigantes, bem como para estudar os efeitos da combinação de componentes, visando identificação de potencial efeito sinérgico e antagônico.

Ainda no mesmo trabalho, a análise da composição química dos óleos essenciais apresentou como compostos majoritários de *L. citriodora* limoneno (17,72%), geranial (14,79%), carvona (14,22%) e óxido de cariofileno (12,38%). Os compostos cânfora, neral e  $\alpha$ -tujona, comuns a esta espécie, não foram encontrados nesta amostra. Para o óleo essencial de *F. vulgare*, o composto majoritário foi o fenilpropanoide trans-anetol (72,86%), seguido de fenchona (12,93%) e limoneno (6,37%). O composto metil-chavicol, também conhecido como estragol, foi encontrado em pequena concentração (3,41%). *R. officinalis* apresentou como compostos majoritários o 1,8 cineol ou eucaliptol (13,46%),  $\alpha$ -pineno (12,56%), cânfora (11,75%), borneol (9,41%) e verbenona (8,29%). Compostos como isoborneol (3,13%), 3-careno (1,99%), limoneno (1,20%) e óxido de cariofileno (0,71%) foram detectados nesta amostra, diferindo da literatura (Zoubiri e Baaliouamer, 2011).

As atividades repelente e tóxica do óleo essencial do louro (*Laurus nobilis*) sobre *Rhizopertha dominica* e *Tribolium castaneum* foram avaliadas por Jemâa et al. (2012). Amostras do óleo essencial de três diferentes procedências (Tunísia, Argélia e Marrocos) e dife-

rentes composições químicas, em diferentes concentrações foram utilizadas nos bioensaios. Os resultados obtidos demonstraram que o óleo essencial do louro das três procedências, mesmo nas concentrações mais baixas testadas, apresentaram atividade repelente e fumigante. *R. dominica* apresentou maior sensibilidade quando comparado ao *T. castaneum* nos ensaios de atividade fumigante. O óleo essencial proveniente do Marrocos apresentou maior atividade sobre os insetos testados que os demais óleos essenciais. Ao comparar a composição química das três amostras, os autores identificaram a presença de 1,8 cineol, isovaleraldeído e  $\alpha$  - terpineol, compostos majoritários, em concentrações maiores que na amostra de óleo essencial do Marrocos, observando-se o inverso para o linalol. Relatos anteriores na literatura conferem atividade inseticida ao 1,8 cineol sobre *T. castaneum* (LEE et al., 2003; ROZMAN et al., 2007).

Yang et al (2010) testaram o efeito de óleos essenciais de *Thymus vulgaris*, *Pogostemon cablin* e *Corymbia citriodora* na mortalidade de ovos, ninfas de primeiro ínstar e pupa, bem como na oviposição de adultos de *Bemisia tabaci* biótipo B. Os ensaios foram realizados utilizando-se as concentrações de 0,125 %, 0,25% e 0,5% para os óleos essenciais, que foram aplicados para verificar a toxicidade no contato. Outro ensaio foi realizado para verificar a ação repelente, testando-se apenas a concentração de 0,5%. Os resultados apresentaram efeito dose-dependência, sendo maior a mortalidade quanto maior a dose aplicada, porém, não foi observada fitotoxicidade nas plantas de tomate tratadas com os óleos essenciais. O óleo essencial de *T.vulgaris* destacou-se dos demais nos ensaios de toxicidade por contato, apresentando as taxas de redução de sobrevivência de 73%, 79% e 58% para ovos, ninfas e pupas, respectivamente. Os resultados expressados nos ensaios avaliando a repelência dos óleos essenciais sobre *B. tabaci* apresentaram o óleo essencial de *P. cablin* como o mais promissor.

Isman et al. (2001) também estudaram a atividade inseticida via administração tópica de 21 óleos essenciais sobre a traça do tomateiro. Três óleos essenciais foram altamente tóxicos ao inseto (*Satureia hortensis*, *T. serpyllum* e *Origanum creticum*), apresentando mais de 90% de mortalidade de larvas em 24 horas, utilizando-se a dose de 100µg/larva. A atividade inseticida de *T. serpyllum* e *S. hortensis* é associada aos seus compostos majoritários, timol e carvacrol.

Tripathi et al. (2003) relataram a toxicidade do óleo essencial de *Aegle marmelos* (marmeleiro-da-Índia) por aplicação tópica em larvas de *Spodoptera litura* (DL50 = 116,3 mg/larva). O óleo essencial de *Lippia alba* induziu a inibição do crescimento (IC 50 = 6,9-11,0 mg/g de dieta), no qual o crescimento relativo e as taxas de consumo de alimentação de *S. litura* foram visivelmente reduzidos.

## 2. Extratos vegetais e seus derivados

Extratos metanólicos de espécies medicinais foram testados por Han et al. (2006), para verificar a atividade inseticida (28 espécies) e deterrente (24 espécies) das mesmas sobre *Attagenus unicolor japonicus* (Coleoptera: Dermestidae). Para avaliar a atividade inseticida, os autores realizaram um bioensaio no qual larvas foram expostas a três concentrações dos extratos (5,2; 2,6 e 1,3mg/cm<sup>2</sup>), sendo a dose inicial (mais alta) selecionada em ensaios preliminares. O percentual de mortalidade foi avaliado a cada sete dias, durante 28 dias. Os extratos metanólicos de bulbilho de *Allium sativum* (93% aos sete dias após o tratamento, na concentração de 5,6mg/cm<sup>2</sup>), broto de *Eugenia caryophyllata* (100% de mortalidade aos quatorze dias após o tratamento na concentração de 2,6mg/cm<sup>2</sup> e 90% de mortalidade na concentração de 1,3mg/cm<sup>2</sup> aos 21 dias após o tratamento) e frutos de *Foeniculum vulgare* (100% de mortalidade na concentração de 5,2mg/cm<sup>2</sup> aos 28 dias após o tra-

tamento) apresentaram os resultados mais promissores. Nos ensaios para avaliar a atividade deterrente, foram utilizadas as mesmas concentrações anteriormente descritas, por um período de 30 dias.

Os extratos de raízes de *Angelica dahurica*, rizomas de *Cnidium officinale*, rizomas de *Acorus calamus* var. *angustatus*, rizomas de *Acorus gramineus*, *Lysimachia davurica* (planta toda), frutos de *Zanthoxylum schinifolium* e rizomas de *Nardostachys chinensis* apresentaram mais de 90% de inibição na concentração de 2,6mg/cm<sup>2</sup>. Total inibição foi observada pelos extratos de *L. davurica*, *A. dahurica* e *N. chinensis* na concentração de 1,3mg/cm<sup>2</sup>. Ainda segundo os mesmos autores, a utilização simultânea de substâncias provenientes de plantas com ação lenta e rápida pode ser muito útil no controle de *Attagenus unicolor japonicus* em produtos armazenados, pois podem ser eficientes por um longo período.

A atividade inseticida do extrato aquoso de folhas de *Ruta graveolens*, e extratos etanólicos de folhas de *Copaifera langsdorffii* e folhas de *Chenopodium ambrosioides* foi testada em campo sobre *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) e *B. tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) e inimigos naturais sobre plantas de tomate por Barbosa et al. (2011). A concentração dos extratos foi de 5% e as avaliações foram realizadas 24 e 72 horas após a pulverização. Os resultados mostraram atividade inseticida do extrato de *C. langsdorffii* sobre *B. tabaci* 24 horas após a aplicação, apresentando efeito residual nas 72 horas subsequentes, porém, foi observada ação sobre os inimigos naturais, o que não é uma característica desejável. *C. ambrosioides* apresentou melhores resultados na redução do número de adultos de *T. absoluta*. O extrato de *R. graveolens* apresentou atividade inseticida inferior aos demais tratamentos, demonstrando porém, maior seletividade aos inimigos naturais quando comparado aos demais extratos.

Silva et al. (2007) realizaram ensaios com extratos de *Piper aduncum* (pimenta de macaco) sobre *Aetalion* sp. (Hemiptera: Aetalioniidae), insetos considerados pragas sugadoras de importância econômica, coletados em *Clitoria fairchildiana* (Leguminosae). Foram testados extratos aquosos de folhas e raízes de *P. aduncum*, nas concentrações de 10, 20 e 30 mg/ml, em intervalos de tempo de 12 horas (12, 24, 36 e 48 horas). Os extratos aquosos de folhas e raízes de *Piper aduncum* na concentração de 30mg/ml apresentaram maior atividade inseticida sobre adultos de *Aetalion* sp. quando comparado aos demais, induzindo a mortalidade de 72% e 80% respectivamente, no tempo de 48 horas. Os autores associaram a atividade inseticida dos extratos observada nos ensaios à presença do dilapiol, composto majoritário do óleo essencial encontrado principalmente nas espécies de *P. aduncum* provenientes da Amazônia.

A atividade inseticida dos óleos essenciais de *P. hispidinervum*, *P. aduncum* e *Tanaecium nocturnum* sobre *Tenebrio molitor* foi avaliada por Fazolin et al. (2007). Os autores observaram toxicidade elevada para larvas, variando os níveis de mortalidade em função da concentração e via de intoxicação. Ressaltam que estes apresentam promissora utilização como inseticidas nas concentrações de 3% (v/v<sup>-1</sup>) de *P. hispidinervum* e 2,5% (v/v<sup>-1</sup>) de *P. aduncum* e *T. nocturnum*.

Fazolin et al. (2005) apresentaram resultados positivos do óleo essencial de *P. aduncum* no controle *Cerotoma tingomarianus* Benchyné. Os autores avaliaram a intoxicação por contato e aplicação tópica. A CL<sub>50</sub> (concentração letal) 0,003ml de óleo essencial /cm<sup>-2</sup> e aDL<sub>50</sub> (dose letal) foi de 0,002 mL de óleo essencial/inseto<sup>-1</sup>.

Uma das espécies vegetais mais estudadas como fonte de novos compostos é a *Azadirachta indica*. Extratos provenientes de várias partes desta planta, principalmente das sementes, vem apresentando atividade inseticida. Grande quantidade de compostos foi

observada, porém, dentre estes, destaca-se a azadiractina, um tetraterpenoide, que apresenta atividade tóxica, deterrente alimentar e de oviposição, repelente, inibidor de crescimento, inibidor de muda e esterilizante em insetos (BUTTERWORTH; MORGAN, 1968; MORDUE; BLACKWELL, 1993; SCHMUTTERER, 1988).

A atividade inseticida da azadiractina sobre *B. tabaci* biótipo B (mosca-branca) em meloeiro foi descrita por Silva et al. (2003), enfatizando seu efeito sistêmico. Os ensaios foram realizados em casa-de-vegetação e em campo. Para os ensaios em casa-de-vegetação, os autores avaliaram a ação da pulverização no 18º dia após o plantio de uma formulação inseticida contendo 1% de azadiractina em diferentes dosagens: 0, 4, 8, 16 e 32 mL/L., observando-se em laboratório, com o auxílio de um microscópio estereoscópico, o número de ninfas e exúvias existentes em uma área circular de folha de 2,8 cm<sup>2</sup>, quatorze dias após a aplicação do produto. Em condições de campo, os tratamentos utilizados foram: 4 e 8 ml da formulação inseticida com 1% de azadiractina, dois produtos comerciais sintéticos, uma associação de permetrina com azadiractina e a testemunha. A pulverização foi realizada 28 dias após o plantio. A avaliação do experimento foi feita pela amostragem de adultos e ninfas de mosca-branca das 08h30min às 09h30. Os melhores resultados nas condições de campo foram observados para os tratamentos com azadiractina nas dosagens de 4 e 8 ml/L, com eficiência de 67,83% e 70,13%, respectivamente. Estes resultados foram significativamente superiores aos demais tratamentos. Nos experimentos realizados em casa-de-vegetação, os tratamentos com azadiractina (1%) nas concentrações de 16 e 32ml /L apresentaram os melhores resultados no tocante à redução do número de ninfas por folha (29% e 11%, respectivamente).

Bhuiyan et al. (2001) avaliaram os efeitos sinérgicos do dilapiol em larvas de quarto ínstar da traça-do-tomateiro (*Spodoptera litura*) uti-

lizando-se de nim, rotenona e toosendanina, um triterpenóide extraído de *Melia toosendan*. Os autores utilizaram o método de disco foliar. A ação do nim, rotenona e toosendanina foi intensificada pelo dilapiol nas primeiras 24 horas de exposição (período de exposição direta). Contudo, nas 72 horas seguintes, este efeito sinérgico não foi observado. O efeito do dilapiol aparentou ter efeito antagônico à inibição de crescimento apresentada pelo nim. A mortalidade das larvas expostas ao nim, rotenona e toosendanina foi significativamente reforçada pela co-administração do dilapiol. Dilapiol a 0,05% apresentou atividade sinérgica quando associado ao nim (0,5%) e ao piretro (0,1%).

Ahmad et al. (2012) testaram o efeito de três inseticidas comerciais à base de azadiractina sobre a traça-das-crucíferas (*Plutella xylostella*, Lepidoptera), uma praga que ocasiona perdas significativas nas culturas das Brássicas (couve-flor, couve, brócolis e repolho), tanto no Brasil como em vários países. Foram avaliados os efeitos dos mesmos sobre os parâmetros biológicos, peso de pupa e índices nutricionais da praga sobre folhas de couve-flor. Foram testadas as concentrações de 5, 10, 15 e 20 ppm de azadiractina, o ingrediente ativo dos inseticidas. As maiores concentrações (15 e 20 ppm) de todos os três inseticidas testados afetaram significativamente os parâmetros biológicos de *P. xylostella* quando comparados com as concentrações menores (5 e 10 ppm) e à testemunha. Os resultados apresentados mostraram que o tempo de desenvolvimento foi dependente da concentração para todos os inseticidas testados. Observou-se redução do peso das pupas nas concentrações mais altas (15 e 20 ppm) de um dos inseticidas testados, devido ao consumo reduzido do vegetal. Os mesmos autores concluíram que os produtos a base de nim nas concentrações de 15 e 20 ppm apresentaram impacto significativo na capacidade da muda da traça-das-crucíferas, sendo a interrupção da muda, por ocasião do empupamento, o mais importante efeito fisiológico do nim obser-

vado em Lepidoptera, pelas larvas não terem iniciado o processo de muda larva-larva e larva-pupa.

Os severos ataques desta praga às culturas, principalmente em períodos de estiagem, podem acarretar perda total da produção (Medeiros et al., 2003). Este inseto apresenta vários hospedeiros, o que facilita a sua sobrevivência (CZEPAK, 2005). A fêmea apresenta cor parda e deposita de um a três ovos na parte inferior da planta (GALLO et al., 1988). Apresenta-se como uma pequena lagarta verde clara na forma jovem, chegando a medir até 10 mm de comprimento. Após a eclosão, ocorre a penetração no parênquima das folhas pelas lagartas. Permanecem nesta parte da planta, onde se alimentam por dois ou três dias. Após este período, saem das galerias e passam a se alimentar da epiderme. Atacam folhas jovens e folhas velhas e agem paralisando o crescimento da hospedeira. Agem principalmente na cabeça da planta, reduzindo a qualidade do produto final, o que muitas vezes, os tornam impróprios para o consumo (SILVA et al., 1993).

O controle é realizado através de várias aplicações de inseticidas sintéticos, o que tem se mostrado ineficiente, ocasionando também indivíduos resistentes, bem como problemas ambientais. Os autores avaliaram o efeito da azadiractina, ingrediente ativo dos produtos comerciais, em diferentes concentrações (5, 10, 15 e 20 ppm) sobre parâmetros biológicos (pré-oviposição, oviposição, pós-oviposição, fecundidade e longevidade de machos e fêmeas adultos), peso da pupa e índices nutricionais da traça-das-crucíferas em folhas de couve-flor. As concentrações mais altas (15 e 20 ppm) de azadiractina afetaram diretamente os parâmetros biológicos quando comparados às concentrações mais baixas (05 e 10 ppm) e o controle (folhas não tratadas). O tempo de desenvolvimento mostrou-se dependente da concentração aplicada, sendo o tempo de desenvolvimento larval significativamente prolongado pela aplicação dos produtos a base de nim (Schmutterer, 1988).

### 3. Mecanismos de ação

Plantas vêm desenvolvendo uma grande variedade de mecanismos para reduzir o ataque de insetos, tanto constitutivos como induzíveis, enquanto os insetos vêm evoluindo estratégias para superar estes mecanismos de defesa. Estas defesas são úteis para as plantas contra muitos vertebrados, já que os elementos das vias de sinalização neuronais são muito semelhantes em todo o reino animal. Muitos mecanismos ou sinais biológicos regulam a eficácia da transmissão sináptica, o que proporciona diversas e importantes possibilidades de combinação e possibilita alterar combinações neurais (RATTAN, 2010).

É importante observar que os compostos sejam avaliados da maneira mais apropriada em relação aos seus modos de ação, utilizando-se metodologias consistentes. A maneira pela qual um composto é avaliado é fundamental para determinar se este será ou não eficaz (COLLINS, 2006). Outro fator que também apresenta grande relevância é a investigação de padrões de comportamento de insetos, a fim de possibilitar a elucidação do modo de ação de pesticidas, sejam estes inéditos ou de uso convencional, vegetais ou sintéticos, bem como sua ação no ambiente, reduzindo o contato com o material tóxico (KEYSERLINGK et al., 1985).

As espécies de plantas que apresentam seu sistema de defesa mais eficiente sintetizam várias substâncias de defesa moderadamente tóxicas ou um pequeno número de compostos altamente tóxicos. Os insetos herbívoros alimentam-se de uma grande diversidade de espécies vegetais, o que aumenta a probabilidade destes encontrarem substâncias tóxicas com efeitos relativamente não-específicos sobre uma vasta gama de alvos moleculares. Estes alvos variam de proteínas (enzimas, receptores, canais iônicos, proteínas estruturais), ácidos nucleicos, biomembranas a metabólitos secundários com interações específicas ou inespecíficas e outros componentes celulares (HARBORNE, 1993).

Os inseticidas vegetais afetam a fisiologia dos insetos de diversas maneiras por agirem em receptores diferentes. Os metabólitos secundários presentes nas plantas, em relação ao controle de insetos, apresentam atividades que podem ser classificadas como atraentes, repelentes, deterrentes, tóxicas e análogos hormonais de insetos (SAITO; LUCCHINI 1998).

### 3.1 Atividades atraente e repelente

Por que os insetos se alimentam de determinadas plantas e rejeitam outras? De acordo com Alves (1980), esta preferência se deve não exclusivamente à presença de substâncias atraentes, mas também pela ausência de compostos com atividade repelente. Estas substâncias, sejam estas atraentes ou repelentes, são em sua maioria, óleos essenciais, moléculas de natureza terpênica que apresentam baixo peso molecular (SAITO; LUCCHINI, 1998).

Vários métodos baseados em técnicas como atividade repelente são utilizados no controle de pragas de grãos armazenados. Cox (2004) afirma que substâncias repelentes podem ser utilizadas como barreiras de proteção nos tonéis de armazenamento de grãos ou incorporados nas embalagens para evitar o ataque dos insetos. A atividade repelente de espécies medicinais e aromáticas contra pragas de armazenamento já foi supracitada para *S. granarius* (ZOUBIRI; BAALIOUAMER, 2011), *T. castaneum* (LEE et al., 2003; ROZMAN et al., 2007; KIM et al., 2010, JEMÂA et al., 2012), e *C. maculatus* (F.) (ILBOUDO, 2010), o que demonstra que produtos naturais derivados de plantas apresentam potencial para serem utilizados para este fim.

A atividade atraente pode ser relacionada à atração de polinizadores e dispersores de sementes, porém, de acordo com Carroll et al. (2006), a emissão de substâncias terpênicas pelas plantas

pode alcançar outros alvos não intencionais. Insetos herbívoros podem utilizar-se destas substâncias para localizar seus hospedeiros, como por exemplo as larvas de *S. frugiperda*, que se utilizam de compostos voláteis liberados após fermento para auxiliá-las a encontrar as plantas das quais se alimentam.

Pesquisas visando investigar a ação atraente de óleos essenciais são antigas. Dethier (1941), em estudos realizados com plantas pertencente à família Apiaceae e sua relação com a borboleta *Papilio ajax* (Lepidoptera: Papilionidae), observou atração do inseto através do uso de papel de filtro tratado com constituintes químicos dos óleos essenciais como metilchavicol, carvona e coriandrol.

Alves et al. (1980), relataram que algumas substâncias isoladas das folhas de amoreira (*Morus alba*), como o citral e o acetato de terpenila, são atrativas para as larvas do bicho-da-seda (*Bombix mori*). Foram também encontradas outras substâncias, não identificadas, que apresentam como única função a indução da larva a morder as folhas da amoreira.

Uma descoberta recente, a atração de inimigos naturais por compostos provenientes de plantas, foi relatada por Schnee et al. (2002). Os autores observaram que o ataque de *S. littoralis* em milho acarreta em emissão imediata de mono e sesquiterpenos pela planta. Estes compostos voláteis agem como sinalizadores para vespas parasitas, auxiliando na localização de larvas de *S. littoralis*, já que estas são seus hospedeiros naturais. De acordo com Heil e Bueno (2007), a emissão de terpenos pelas plantas também pode ser uma sinalização interna da mesma para indicar a presença de herbívoros, o que acarreta a indução de defesas em tecidos vizinhos. O ataque de insetos herbívoros, em algumas espécies vegetais, desencadeia a produção de uma rica mistura de terpenos voláteis pelas folhas atacadas, estimulando as folhas vizinhas a aumentarem a produção de um néctar extrafloral que atrai inimigos naturais. A identificação do caminho percorrido por estes compos-

tos voláteis desde o momento de sua biossíntese, incluindo sua liberação, até o momento de sua ligação ao receptor, é de grande relevância científica. Isto possibilitaria identificar quais os componentes envolvidos nesta via de sinalização, bem como estes são regulados (GERSHENZON, 2007).

### 3.2 Atividade deterrente

A palavra deterrente tem por significado “aquilo que detém, retarda ou impede temporariamente”. Algumas substâncias provenientes de plantas apresentam atividade deterrente, também conhecida como fagoinibidora ou antialimentar. Esta propriedade apresenta grande relevância devido à especificidade que algumas pragas apresentam por determinadas espécies vegetais.

Sesquiterpenos do tipo drimano apresentam várias atividades biológicas. Dentre estas, pode-se citar a ação deterrente de insetos sobre plantas (MESSCHENDORP et al., 2000). Acredita-se que o modo de ação de muitos destes compostos é resultante da reação da função eno-dialdeído com nucleófilos biológicos, a qual é iniciada pelo ataque sobre o carbono olefina, que é  $\beta$  para a funcionalidade do aldeído (JANSEN; GROOT, 2004).

Embora a molécula-alvo desta ligação ainda não seja conhecida, a ação deterrente dos terpenos do tipo drimano pode ser resultado de uma ação direta sobre os receptores gustativos. Em larvas de lepidópteros, estas substâncias bloqueiam os efeitos estimuladores de glicose, sacarose e inositol em células quimio-receptoras localizadas nas partes bucais, podendo também apresentar outros modos de ação sobre os receptores. Estes dialdeídos drimanos apresentam um intenso sabor picante para o paladar humano, o que pode ser um indicativo do tipo de atividade que estes compostos possuem (GERSHENZON; DUDAREVA, 2007).

Relatos de que o meliantriol, isolado dos frutos frescos de *Melia azedarach*, e o óleo de *Azadirachta indica* (nim) eram fago-inibidores de gafanhotos do deserto motivaram o trabalho pioneiro de Butterworth e Morgan, em 1968. A substância inibidora, denominada de azadiractina, não se relacionava ao meliantriol e era dotada de notável atividade fago-repelente. Sua estrutura foi proposta mais adiante por Zanno et al., 1975 e finalmente corrigida por Kraus et al., 1985.

De acordo com Karnavar (1987), extratos de nim e a azadiractina isolada destes influenciam no comportamento e fisiologia de diversos insetos. Estes compostos afetam os receptores sensoriais, inibindo assim a ingestão de alimentos. Esta propriedade anti-alimentar ou deterrente tem sido utilizada para a proteção de plantas. A motilidade do intestino e o movimento de alimentos no tubo digestivo também são regulados pela azadiractina.

Akhtar et al. (2012) investigaram a ação deterrente de quinonas naturais (juglona, extraída do cerne de *Caesalpinea sappan*, plumbagina, extraída de raízes de *Diospyros kaki*, emodina, extraída de sementes de *Cassia obtusifolia*, e timoquinona, extraída de folhas de *Origanum vulgare*) em comparação com quinonas sintéticas sobre larvas de terceiro instar de *Trichoplusia ni* (lagarta mede palmo) em repolho. Foi utilizado o método de discos foliares com livre chance de escolha. Os autores observaram menor consumo de área foliar e menor peso de larvas que se encontravam nas folhas tratadas com quinonas naturais. Os mesmos ressaltam que a atividade da maioria destas quinonas foi superior a do nim, que foi utilizado como controle positivo nos testes de laboratório. Segundo estes, a relação estrutura – atividade sugere que o efeito deterrente das quinonas testadas depende do número e da posição dos substituintes hidroxila e metoxila das quinonas.

### 3.3. Atividade tóxica

Algumas substâncias provenientes de plantas medicinais apresentam sintomas visíveis de modo de ação neurotóxico, como hiperatividade, convulsões, tremores, bem como podem agir como inibidores da acetilcolinesterase ou se ligar ao sistema octopaminérgico dos insetos. A octopamina é uma amina biogênica multifuncional, que ocorre naturalmente e desempenha um papel fundamental como um neurotransmissor, neuro-hormônio e neuromodulador em sistemas de invertebrados, com um papel fisiológico análogo ao da norepinefrina em vertebrados. Muitas das funções fisiológicas da octopamina parecem ser mediadas por múltiplas subclasses farmacologicamente distintas de receptores, os quais são acoplados a um segundo sistema mensageiro diferente. Estes subtipos de receptores diferem em seus tecidos e na localização celular e sua afinidade para octopamina e outras rotas eliciadas (EVANS, 1981; NATHANSON, 1985; ROEDER, 1994; KOSTYUKOVSKY et al., 2002).

A resposta a um determinado composto secundário pode estar sujeita a influência considerável de outros fatores (tanto endógenos como exógenos) e pode haver vários mecanismos pelos quais as respostas-alvo poderiam ser moduladas, por exemplo, a taxa de excreção ou inativação destes compostos, as mudanças nos receptores-alvos para estes compostos, e interações com fatores endógenos que podem superar as respostas-alvo. Portanto, o conhecimento do modo de ação fisiológico dos princípios ativos naturais é de grande importância para a sua utilização futura na agricultura.

A acetilcolinesterase desempenha um importante papel nas sinapses colinérgicas que são essenciais para os insetos e animais superiores. A inibição da acetilcolinesterase causa acúmulo de acetilcolina nas sinapses, de modo que a membrana pós-sináptica per-

manece em estado de estímulo constante, resultando em ataxia, ou seja, ausência de coordenação no sistema neuromuscular e morte eventual (RATTAN, 2010).

Um importante aspecto ainda sobre a acetilcolinesterase é o fato desta ser resistente ao carbamato e a organofosforados, sendo a alteração da acetilcolinesterase um dos principais mecanismos de defesa de insetos (WANG et al, 2004). Diversos produtos naturais vêm apresentando atividade inibitória da acetilcolinesterase contra diferentes espécies de insetos (KOSTYUKOVSKY et al., 2002). Felipe et al (2008) relataram que o óleo essencial de gengibre (*Zingiber officinale*) altera o comportamento e a memória no sistema colinérgico. Já o linalol atua como inibidor da acetilcolinesterase (RYAN; BYRNE, 1988).

A atividade de dois constituintes purificados de óleos essenciais (ZP-51 e SEM-76) sobre os insetos Coleoptera: *S. oryzae* L (Curculinidae), *Rhizoperthadominica* F (Bostrichidae), *T. castaneum* Herbst (Tenebrionidae), *Oryzaephilus surinamensis* L (Silvaniidae), *Trogoderma granarium* Everts (Dermestidae), e Lepidoptera: *Helicoverpa armigera* Hübner (Noctuidae), *Ephestia cautella* Walker (Phycitidae), *Plodia interpunctella* Hübner (Phycitidae) foi avaliada por Kostyukovsky et al. (2002). Estes compostos mostraram atividade elevada quando comparados ao composto do óleo essencial (+)-limoneno. Tanto ZP-51 e SEM-76 mostraram uma ação inibitória sobre a enzima acetilcolinesterase, mas apenas com a alta dose farmacológica de  $10^{-3}$  M. Isto indica que a acetilcolinesterase não era o principal sítio de ação para estes óleos essenciais. No entanto, utilizando a atividade antagonista de octopamina da fentolamina, os autores demonstraram que os óleos essenciais podem afetar receptores octopamina.

Estudos realizados por Enan (2001) com três compostos de óleos essenciais, tais como eugenol,  $\alpha$ -terpineol e álcool cinâmico so-

bre *Periplaneta americana*, *Camponotus pensilvanicus* (DeGeer) e *Blatella germanica* apresentaram fortíssima atividade inseticida. O  $\alpha$ -terpineol apresentou maior resposta sobre *P. americana*, resultando em hiperatividade seguida de hiperextensão de pernas e abdômem, e então rápido *knock down* ou rápida imobilização seguida de morte. Já o eugenol apresentou maior toxicidade para *C. pensilvanicus* e o álcool cinâmico foi mais tóxico para *B. germânica*. A resposta dos dois últimos insetos foi semelhante, mostrando rápida imobilização/*knock down* seguida de morte. A mistura dos três compostos em igual concentração demonstrou grande eficácia contra os três insetos, notando-se aumento da frequência cardíaca de indivíduos de *P. americana* após aplicação tópica da mistura de compostos. A troca nos padrão do nível de c-AMP foi bifásica. Foram, também, observados aumentos consideráveis do nível de 1nmol/ml de eugenol ou da mistura dos três compostos, e de 10nmol/ml de  $\alpha$ -terpineol. Em altas concentrações houve uma queda brusca do nível de c-AMP. Além disto, foi observado um bloqueio dos sítios de ligação dos receptores de octopamina nas concentrações mais baixas, devido a redução da ligação da [<sup>3</sup>H]octopamina aos seus receptores. Os ensaios comprovaram a ação neurotóxica dos três componentes para as espécies que são eficazes, apresentando efeito sinérgico quando igualmente misturados.

Outra forma de ação tóxica dos compostos é sobre a atividade de fosforilação de proteínas (H-ATP, bomba de prótons) ou algum sistema enzimático (como a ATP-ase). A rotenona é um dos exemplos de compostos naturais que atua sobre o sistema mitocondrial, inibindo a sua atividade. A rotenona, extraída de espécies do gênero *Lonchocarpus*, age como um inibidor da enzima respiratória, a NADH - UQ redutase, que atua entre NAD + e coenzima Q, resultando em falha das funções respiratórias.

Além da interferência na respiração celular, outros efeitos tóxicos de substâncias extraídas de plantas são observadas no sistema

mitocondrial, como interferência na ação da membrana das células nervosas devido à ação da sabadilha extraída de *Schoenocaulon officinale* (BLOOMQUIST, 1996) e interrupção na troca iônica de sódio e potássio ocasionada pela piretrina (CASIDA, 1973). O piretro e seus compostos, e suas ações tóxicas nos insetos serão mais detalhadas a seguir.

### 3.3.1. Piretro

Um dos maiores compostos com ação tóxica é o piretro. O nome piretro refere-se a óleo-resina proveniente do extrato apolar, como por exemplo o extrato hexânico, obtido de *Tanacetum cinerariifolium* (ISMAN, 2006). O piretro é uma mistura de seis compostos: piretrinas I e II, cinerinas I e II e jasmolinas I e II (SAITO; LUCCHINI, 1998; ISMAN, 2006; WARE; WHITACRE, 2012). As piretrinas são sensíveis à luz solar, o que acarretou a demanda por análogos sintéticos, conhecidos por piretróides. O modo de ação dos compostos naturais, as piretrinas, e dos sintéticos, os piretróides, é diferente, por apresentarem pouca semelhança estrutural (ISMAN, 2006).

O piretro age sobre os insetos com intensa velocidade, o que acarreta paralisia imediata (*knock down*), principalmente sobre insetos alados. Este efeito rápido é o responsável pela sua popularidade em aerosóis domésticos. Na maioria dos outros insetos, age causando hiperatividade e convulsões. Estes sintomas se devem a ação neurotóxica das piretrinas, com bloqueio dos canais de sódio nos axônios (ISMAN, 2006; SANTOS et al., 2007; WARE; WHITACRE, 2012). Afetam tanto o sistema nervoso periférico como o sistema nervoso central do inseto. O piretro inicialmente estimula as células nervosas a produzir descargas repetitivas, levando eventualmente à paralisia (WARE; WHITACRE, 2012).

A ação da piretrina assemelha-se aos piretroides sintéticos e ao DDT. De alguma forma, afetam a transmissão do impulso elétrico ao longo dos axônios, as extensões alongadas do corpo da célula neuronal (Ware e Whitacre, 2012). Os piretroides são substâncias de contato, que causam reações características nos insetos, pois penetram rapidamente no sistema nervoso. Estas podem ser descritas como, inicialmente, fase de grande excitação, distúrbios de coordenação de movimento, paralisia seguida de morte (SHERMA, 1995). O piretro e alguns piretroides apresentam um maior efeito inseticida quando a temperatura encontra-se mais baixa (WARE; WHITACRE, 2012).

O modo de ação dos piretroides foi descrito por Narahashi (1976) e Büchel (1983). Os autores relatam que os piretroides agem nos canais iônicos das sinapses nervosas dos insetos, mantendo os canais de sódio abertos, resultando em uma despolarização lenta e contínua, que eventualmente bloqueia a condução do nervo, causando paralisia.

A atividade biológica dos piretroides varia de acordo com a sua estrutura química, assim como com configuração estérica (*cis/trans*). Os isômeros *cis* possuem toxicidade mais expressiva quando comparado ao isômero *trans*, sendo que o carregador não polar aumenta a toxicidade de ambos isômeros. Isto reforça a importância das diferenças nas estruturas químicas dos inseticidas para a sua toxicidade (KANEKO et al., 1981; VALENTINE, 1990; SODERLUND, 2002, SANTOS, 2007).

### 3.4 Análogos hormonais

Segundo Collins (2006), a habilidade de um composto em prevenir o crescimento de insetos pode ser considerada como o critério mais

importante na eficácia, se comparado a um efeito de mortalidade rápida em insetos adultos.

A azadiractina, composto proveniente do nim, apresenta como uma de suas atividades a interferência no funcionamento das glândulas endócrinas responsáveis por controlar a metamorfose em insetos, ocasionando o bloqueio do desenvolvimento na fase larval. Para que este efeito inibidor de crescimento aconteça são necessários microgramas da substância e este é devido à interferência na regulação neuroendócrina de hormônios nas larvas, atuando principalmente sobre os túbulos de Malpighi e no *corpus cardiacum* do inseto. Neste último, as azadiractinas reduzem o “turnover” do material neuro-secretório, fazendo com que os níveis de hormônios morfogênicos dos insetos jovens e larvas sejam modificados e concomitantemente decresçam após a ingestão de azadiractina. Assim, a metamorfose dos insetos jovens é inibida bem como a reprodução dos indivíduos adultos, o que é conhecido por distúrbios ou inibição no desenvolvimento dos ovos Godfrey (1994),

As propriedades inseticidas da azadiractina como reguladora de crescimento também foram descritas por Schmutterer (1988) e Ware e Whitacre (2012). A azadiractina age sobre o sistema neuroendócrino, interrompendo a muda por inibição da biossíntese do hormônio juvenil ou metabolismo da ecdisona.

Ahmad et al., (2012) relataram na literatura a ação da azadiractina na redução da fecundidade e longevidade de indivíduos adultos de *P. xylostella*. De acordo com Karnavar (1987) este composto afeta o desenvolvimento ovariano, resultando em problemas de fecundidade e fertilidade.

Schmutterer (1988) descreve que a longevidade de adultos de diversas espécies de insetos foi reduzida após a aplicação de extratos de nim ou de azadiractina. Isto demonstra a atividade isolada

do composto, não havendo interferência das demais substâncias presentes no extrato.

### **Considerações finais**

A intensa busca por praguicidas provenientes de espécies vegetais visando seu uso na agricultura é recente, e é decorrente da necessidade de obtenção de defensivos que apresentem menor impacto ambiental. Outro fator que motivou esta busca foi o avanço na área da química sintética. Isto possibilitou modificações moleculares e síntese de compostos com estruturas complexas, em escala industrial, o que minimizou um dos grandes problemas observados nos produtos naturais: a baixa estabilidade de alguns de seus componentes. (SAITO; LUCCHINI, 1998).

Segundo Vendramim e Castiglioni (2000), pesquisas buscando descobertas de atividade inseticida em vegetais são realizadas com dois objetivos, sendo o primeiro a descoberta de novas moléculas que sejam modelo de síntese ou semissíntese de novos compostos inseticidas mais eficientes, menos tóxicos e menos persistentes no ambiente (SAITO; LUCCHINI, 1998), e, o segundo, a obtenção de inseticidas vegetais para uso in natura no controle de pragas (VENDRAMIM; CASTIGLIONI, 2000).

Isman (2006) aponta para a necessidade dos pesquisadores atentarem para o desenvolvimento e aplicação de inseticidas vegetais já conhecidos ao invés de buscar novos compostos e isolar substâncias ainda não estudadas, o que pode não gerar resultados satisfatórios. De acordo com Morais (2011) há a necessidade de se incentivar o resgate do conhecimento tradicional de práticas existentes antes do advento dos defensivos sintéticos.

O maior desafio do controle de pragas hoje é encontrar uma alternativa ecológica que seja economicamente viável, associada a danos ambientais reduzidos. Mesmo depois de mais de meio sé-

culo de luta constante contra os insetos nocivos, o inseticida ideal ainda não foi encontrado (REGNAULT-ROGER, 1997). Faz-se necessário ressaltar que, por menor que seja a toxicidade apresentada pelos produtos naturais, testes toxicológicos devem ser sempre realizados, pois trata-se de substâncias que possuem atividade biológica. Como é conhecido que a diferença entre a eficácia e a toxidez das substâncias está na dose, estas devem ser avaliadas e conhecidas, já que o uso de doses inadequadas, bem como a forma de aplicação, podem acarretar sérios problemas. Além dos testes toxicológicos para mamíferos, testes de fitotoxicidade também são necessários para a obtenção de resultados mais satisfatórios (SAITO, 2004).

A elucidação dos compostos ativos, isolados ou em efeito sinérgico com os demais, bem como dos seus mecanismos de ação, torna-se fundamental para o desenvolvimento de novos produtos naturais comerciais.

Partindo-se do princípio que alguns produtos naturais apresentam atividade sobre insetos, pode-se afirmar que eles agem como compostos de defesa química nas espécies vegetais que os produzem. Estes metabólitos secundários constituem importante ferramenta de adequação e representam características adaptativas destas espécies (WINK, 2003).

A evolução conjunta de plantas e insetos vem incentivando a utilização de defesas químicas naturais para o seu controle. Como a natureza encontra-se mais habituada com o uso dos metabólitos secundários pelas plantas, a possibilidade de os vegetais causarem dano ecológico é menor, quando comparado aos pesticidas sintéticos. Outra vantagem dos defensivos naturais sobre os pesticidas sintéticos é que algumas moléculas apresentam estrutura química bastante complexa, o que torna mais difícil os insetos-alvo demonstrar resistência sobre as mesmas. Com isto, os inseticidas

botânicos proveniente de uma grande diversidade de espécies vegetais apresentam grande potencial de uso no futuro. É utópico pensar que estes irão substituir por completo o uso dos pesticidas sintéticos, mas certamente contribuirão para a redução de seu uso excessivo e, conseqüentemente, para a redução dos danos ambientais.

## Referências

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Agrotoxicos+e+Toxicologia/Assuntos+de+Interesse/Monografias+de+Agrotoxicos>. Acesso em: Março de 2012.

AHMAD, N.; ANSARI, M. S.; HASAN, F. Effects of neem based insecticides on *Plutella xylostella* (Linn.). **Crop Protection**, Guildford, v. 34, p. 18-24, 2012.

AKHTAR, Y.; ISMAN, M. B.; NIEHAUS, L. A.; LEE, C. H.; LEE, H. S. Antifeedant and toxic effects on naturally occurring and synthetic quinones to the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. **Crop Protection**, Guildford, v. 31, n. 1, p. 8-14, 2012.

ALVES, L. F. Química dos lepidópteros. **Química Nova**, São Paulo, v. 3, n. 1, p. 6-29, 1980.

BARBOSA, F. S.; LEITE, G. L. D.; ALVES, S. M.; NASCIMENTO, A. F.; D'ÁVILA, V. A.; COSTA, C. A. Insecticide effects of *Ruta graveolens*, *Copaifera langsdorffii* and *Chenopodium ambrosioides* against pests and natural enemies in commercial tomato plantation. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 33, n. 1, p. 37-43, 2011.

BHUIYAN, M. K. R.; HASSAN, E.; ISMAN, M. B. Growth inhibitory and letal effects of some botanical insecticides and potencial sinergy by dilapiol in *Spodoptera litura* (Fab.) (Lepdoptera noctuidal). **Journal of Plant Disease and Protection**, Stuttgart, v. 108, n. 1, p. 82-88, 2001.

BLOOMQUIST, J. R. Ion channels as targets for insecticides. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 41, p. 163-190, 1996.

BOHMONT, B. L. **The standard pesticide user's guide**. Upper Saddle River: Prentice-Hall, 2000. 544 p.

- BÜCHEL, K. H. **Chemistry of pesticides**. New York: J. Wiley, 1983. 400 p.
- BUTTERWORTH, J. H.; MORGAN, E. D. Isolation of a substance that supresses feeding in locust. **Chemical Communications**, London, v. 1, p. 23-24, 1968.
- CARROLL, M. J.; SCHMELZ, E. A.; MEAGHER JUNIOR, R. L.; TEAL, P. E. Attraction of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae to volatiles from herbivore-damaged maize seedlings. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 32, n. 9, p. 1911-1924, 2006.
- CARSON, R. **Silent spring**. New York: Houghton Mifflin, 1962. 400 p.
- CASIDA, J. E. **Pyrethrum** the natural insecticide. New York: Academic Press, 1973. 329 p.
- CASIDA, J. E.; QUISTAD, G. B. Golden age of insecticide research: past, present or future? **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 43, n. 1, p. 1-16, 1998.
- COLLINS, D. A. A review of alternatives to organophosphorus compounds for the control of storage mites. **Journal of Stored Products Research**, Amsterdam, v. 42, n. 4, p. 395-426, 2006.
- COSIMI, S.; ROSSI, E.; CIONI, P. L.; CANALE, A. Bioactivity and qualitative analysis of some essential oils from Mediterranean plants against stored-product pests, Evaluation of repellency against *Sitophilus zeamais* Motschulsky, *Cryptolestes ferrugineus* Stephens and *Tenebrio molitor* L. **Journal of Stored Products Research**, Amsterdam, v. 45, n. 2, p. 125-132, 2009.
- COX, P. D. Potential for using semiochemicals to protect stored products from insect infestation. **Journal of Stored Products Research**, Amsterdam, v. 40, n. 1, p. 1-25, 2004.
- CZEPAK, C.; FERNANDES P. M.; SANTANA H. G.; TAKATSUKA F. S.; ROCHA C. de L. Eficiência de inseticidas para o controle de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) na cultura do repolho. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 35, n. 2, p. 129-131, 2005.
- D'AMATO, C.; TORRES, J. P. M.; MALM, O. DDT (dicloro difenil tricloroetano): toxicidade e contaminação ambiental: uma revisão. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 6, p. 995-1002, 2002.
- DETHIER, V. G. Chemical factors determining the choice of food plants by *Papilio* larvae. **American Naturalist**, Salem, v. 75, n. 756, p. 61-73, 1941.

DJIBO, A. K.; SAMATÉ, A. D.; NACRO, M. Composition chimique de l'huile essentielle de *Ocimum americanum* Linn., syn. *O. canum* Sims du Burkina Faso. **Comptes Rendus Chimie**, Paris, v. 7, n. 10-11, p. 1033-1037, 2004.

ENAN, E. Insecticidal activity of essential oils: octopaminergics sites of action. **Comparative Biochemistry and Physiology. Part C**, London, v. 130, n. 3, p. 325-337, 2001.

EVANS P. D. Multiple receptor types for octopamine in the locust. **Journal of Physiology**, London, v. 318, n. 1, p. 99-122, 1981.

FARIA, A. B. C. Revisão sobre alguns grupos de inseticidas utilizados no manejo integrado de pragas florestais. **Revista Ambiência**, Guarapuava, v. 5, n. 2, p. 345-358, 2009.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L.; CATANI, V.; ALÉCIO, M. R.; LIMA, M. S. Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C. Dc.; *Piper aduncum* e *Tanaecium nocturnum* (barb. Rodr.) Bur. & k. Shum sobre tenebrio molitor, 1758. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 113-120, 2007.

FAZOLIN M.; ESTRELA J. L. V.; CATANI V.; LIMA M. S. de; ALÉCIO M. R. Toxicidade do Óleo de *Piper aduncum* L. a adultos de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, n. 3, p. 485-489, 2005

FELIPE, C. F. B.; FONSECA, K. S.; BARBOSA, A. L. dos R.; BEZERRA, J. N. S., ANDRADE NETO, M.; FONTELES, M. M. de F.; VIANA, G. S. de B. Alterations in behavior and memory induced by essential oil of *Zingiber officinale* Roscoe (ginger) in mice are cholinergic-dependent. **Journal of Medicinal Plants Research**, Ebene, v. 2, n. 7, p. 163-170, 2008.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C. de; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D. **Manual de entomologia agrícola**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1988. 649 p.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C. de; BERTI-FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.

GERSHENZON, J. Plant volatiles carry both public and private messages. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, DC, v. 104, n. 13, p. 5257-5258, 2007.

GERSHENZON, J.; DUDAREVA, N. The function of terpene natural products in the natural world. **Nature Chemical Biology**, New York, v. 3, n. 7, July, p. 408-414, 2007.

GODFREY, C. R. A. **Agrochemicals from natural products**. New York: Marcel Dekker, 1994. 424 p.

HAN, M. K.; KIM, S. I.; ANH, Y. J. Insecticidal and antifeedant activities of medicinal plant extracts against *Attagenus unicolor japonicus* (Coleoptera: Dermestidae). **Journal of Stored Products Research**, Amsterdam, v. 42, n. 1, p. 15-22, 2006.

HARBORNE, J. B. **Introduction to ecological biochemistry**. 4th ed. London: Academic Press, 1993. 318 p.

HASSAN, E.; PRIJONO, D. Plants as a source of biopesticides for pest control: a new perspective. In: GÖKCEKUS, H.; TÜRKER, U.; LaMOREAUX, J. W. (Ed.). **Survival and sustainability: environmental concerns in the 21<sup>st</sup> century**. Dordrecht: Springer, 2011. p. 1491-1508.

HEIL M.; BUENO J. C. S. Within-plant signaling by volatiles leads to induction and priming of an indirect plant defense in nature. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, DC, v. 104, n. 13, p. 5467-5472, 2007.

ILBOUDO, Z.; DABIRÉ, L. C. B.; NEBIÉ, R. C. H.; DICKO, I. O.; DUGRAVOT, S.; CORTESERO, A. M.; SANON, A. Biological activity and persistence of four essential oil towards the main pest of stored cowpeas, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, Amsterdam, v. 46, n. 2, p. 124-128, 2010.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 51, p. 45-66, 2006.

ISMAN, M. B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, Guildford, v. 19, n. 8-10, p. 603-608, 2000.

ISMAN, M. B.; WAN, A. J.; PASSREITER, C. M. Insecticidal activity of essential oils to the tobacco cutworm *Spodoptera litura*. **Fitoterapia**, Amsterdam, v. 72, n. 1, p. 65-68, 2001.

JANSEN, B. J. M.; GROOT, A. Occurrence, biological activity and synthesis of drimane sesquiterpenoids. **Natural Product Reports**, v. 21, n. 4, p. 449-477, 2004.

JEMÂA, J. M. B.; TERSIM, N.; TOUDERT, K. T.; KHOUJA, M. L. Insecticidal activities of essential oil from leaves of *Laurus nobilis* L. from Tunisia, Algeria and Morocco, and comparative chemical composition. **Journal of Stored Products Research**, Amsterdam, v. 48, p. 97-104, 2012.

KANEKO, H.; OHAKAWA, H.; MIYAMOTO, J. Absorption and metabolism of dermally applied phenothrin in rats. **Journal of Pesticide Science**, v. 6, n. 2, p. 169-182, 1981.

KARNAVAR, G. K. Influence of azadirachtin on insect nutrition and reproduction. **Proceedings Indian Academy Science (Animal Science)**, New Delhi, v. 96, n. 3, p. 341-347, 1987.

KEYSERLINGK, D. G.; NIEMANN, K.; WASEL, J.; REINOLD, J.; POECK, K. A new method in computer-assisted imaging in neuroanatomy. **Acta Anatomica**, Basel, v. 123, n. 4, p. 240-246, 1985.

KIM, S.-I.; PARK, C.; OHH, M.-H.; CHO, H.-C.; AHN, Y.-J. Contact and fumigant activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae). **Journal of Stored Products Research**, Amsterdam, v. 39, n. 1, p. 11-19, 2003

KIM, S.-I.; YOON, J.-S.; JUNG, J. W.; HONG, K. B.; AHN, Y.-J.; KWON, H. W. Toxicity and repellency of origanum essential oil and its components against *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) adults. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, Amsterdam, v. 13, n. 4, p. 369-373, 2010.

KOSTYUKOVSKY, M.; RAFAELI, A.; GILEADI, C.; DEMCHENKO, N.; SHAYYA, E. Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants: possible mode of action against insect pests. **Pest Management Science**, West Sussex, v. 58, n. 11, p. 1101 – 1106, 2002.

KRAUS, W.; BOKEL, M.; KLENK, A.; PIIHNL, H. The structure of azadirachtin and 22,23-Dihydro-23D-methoxyazadirachtin. **Tetrahedron Letters**, Oxford, v. 26, n. 52, p. 6431-6434, 1985.

LEE, S.; PETERSON, C. J.; COATS, J. R. Fumigation toxicity of monoterpenoids to several stored product insects. **Journal of Stored Products Research**, Amsterdam, v. 39, n. 1, p. 77-85, 2003.

MARICONI, F. M. **Inseticidas e seu emprego no combate às pragas**. São Paulo: Nobel, 1988. Tomo 1, 305 p.

MEDEIROS, P. T.; DIAS, J. M. C. S.; MONNERAT, R. G.; SOUZA, N. R. **Instalação e manutenção de criação massal da traça-dasrucíferas (*Plutella xylostella*)**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2003. 4 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Circular Técnica, 29).

MENEZES, E. L. A. **Inseticidas botânicos**: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2005. 58 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 205).

MESSCHENDORP, L.; GOLS, G. J. Z.; LOON, J. J. A. Behavioural observations of *Pieris brassicae* larvae indicate multiple mechanism of action of analbeogous drimane antifeedants. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Oxford, v. 95, n. 3, p. 217-227, 2000.

MORAIS, L. A. S. de. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 27, n. 2, p. 4050-4063, 2009.

MORAIS, L. A. S. de. Controle fitossanitário em assentamento de base agroecológica: um resgate do conhecimento tradicional. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Cruz Alta, v. 6, n. 1, p. 57-66, 2011.

MORDUE, A. J.; BLACKWELL, A. Azadirachtin: an update. **Journal of insect physiology**, Amsterdam, v. 39, n. 11, p. 903-924, 1993.

NARAHASHI, T. Nerve membrane as a target of pyrethroids. **Pesticide Science**, Oxford, v. 7, n. 3, p. 267-272, June 1976.

NATHANSON J. A. Characterization of octopamine-sensitive adenylate cyclase: Elucidation of a class of potent and selective octopamine-2 receptor agonists with toxic effects in insects. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, DC, v. 82, n. 2, p. 599-603, 1985.

PEDLOWSKI, M. A.; CANELA, M. C.; TERRA, M. A. da C., FARIA, R. M. R. de. Modes of pesticides utilization by Brazilian smallholders and their implications for human health and the environment. **Crop Protection**, Guildford, v. 31, n. 1, p. 113 – 118, 2012.

PRATES, H. T.; SANTOS, J. P. Óleos essenciais no controle de pragas de grãos armazenados, p. 443-461. In: LORINI, I.; MIIKE, L. H.; SENSSEL, V. M. (Ed.). **Armazenagem de grãos**. Campinas, Instituto Bio Geneziz, 2002. 1000 p.

PROGRAMA DE ANÁLISE DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ALIMENTOS. **Relatório de atividades de 2010**. Brasília, DF: 2011. Disponível em: <http://

portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/b380fe004965d38ab6abf74ed75891ae/Relat%C3%B3rio+PARA+2010+-+Vers%C3%A3o+Final.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 12 mar. 2012.

RATTAN, R. S. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. **Crop Protection**, Guildford, v. 29, n. 9, p. 913-920, 2010.

REGNAULT-ROGER, C. The potential of botanical essential oils for insect pest control. **Integrated Pest Management Reviews**, London, v. 2, n. 1, p. 25-34, 1997.

ROEDER, T. Biogenic amines and their receptors in insects. **Comparative Biochemistry and Physiology**, London, v. 107, n. 1, p. 1-12, 1994.

ROZMAN, V.; KALINOVIC, I.; KORUNIC, Z. Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-product insects. **Journal of Stored Products Research**, Amsterdam, v. 43, p. 349-355, 2007.

RYAN, M. F.; BYRNE, O. Plant-Insect coevolution and inhibition of acetylcholinesterase. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 14, n. 14, p. 1965- 1975, 1988.

SAITO, M. L. As Plantas praguicidas: alternativa para o controle de pragas da agricultura. **Informativo Meio Ambiente e Agricultura**, Jaguariúna, v. 12, n. 47, p. 1-3, 2004. Disponível em: <[http://www.cnpma.embrapa.br/download/informativo/informativo\\_47.pdf](http://www.cnpma.embrapa.br/download/informativo/informativo_47.pdf)>. Acesso em: 12 mar. 2012.

SAITO, M. L.; LUCCHINI, F. **Substâncias obtidas de plantas e a procura por praguicidas eficientes e seguros ao meio ambiente**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1988. 46 p. (Embrapa-CNPMA. Documentos, 12).

SAITO, M. L.; SCRAMIN, S. **Plantas aromáticas e seu uso na agricultura**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 48 p. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 20).

SANTOS, M. A. T.; AREAS, M. A.; REYES, F. G. R. Piretróides: uma visão geral. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 18, n. 3, p. 339-349, 2007.

SCHNEE C.; KÖLLNER T. G.; GERSHENZON, J.; DEGENHARDT, J. The maize gene *tps1* encodes a sesquiterpene synthase catalyzing the formation of (E)- $\beta$ -farnesene, (E)-nerolidol and (E,E)-farnesol after herbivore damage. **Plant Physiology**, Kutztown, v. 130, n. 4, p. 2049-2060, 2002.

SCHMUTTERER, H. Potential of azadirachtin-containing pesticides for integrated pest control in developing and industrialized countries. **Journal of Insect Physiology**, Amsterdam, v. 34, n. 7, p. 713-719, 1988.

SHADIA, E.; EL-AZIZ, A.; OMER, E. A.; SABRA, A. S. Chemical composition of *Ocimum americanum* essential oil and its biological effects against *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera: Noctuidae). **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**, [S.l.], v. 3, n. 6, p. 740-747, 2007.

SHERMA, J. General: pesticides. **Analytical Chemistry**, Washington, DC, v. 67, n. 12, p. 1R- 20R, 1995.

SILVA, A. L. da; VELOSO, V. R. S.; TARDIVO, J. C.; ABREU, C. D. de; SILVA, R. M. de C e. Avaliação de inseticidas piretróides no controle da traça das crucíferas *Plutella xylostella* (L., 1758) em repolho. **Anais da Escola de Agronomia e Veterinária**, Goiânia, v. 23, n. 1, p. 7-12, 1993.

SILVA, L. da; BLEICHER, E.; ARAÚJO, A. C. Eficiência de Azadiractina no controle de mosca-branca em meloeiro sob condições de casa de vegetação e campo. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 21, n. 2, p. 198-201, 2003.

SILVA, W. C.; RIBEIRO, J. D'ARC; SOUZA, H. E. M. de; CORRÊA, R. da S. Atividade inseticida de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) sobre *Aetalion* sp. (Hemiptera: *Aetalionidae*), praga de importância econômica no Amazonas. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 37, n. 2, p. 293-298, 2007.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G; MELLO, J. C. P. de; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Ed. da UFRGS, 1999. p. 387-415.

SODERLUND, D. M.; CLARK, J. M.; SHEETS, L. P.; MULLIN, L. S.; PICCIRILLO, V. J.; SARGENT, D.; STEVENS, J. T.; WEINER, M. L. Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. **Toxicology**, Amsterdam, v. 171, n. 1, p. 3-59, 2002.

STERN, V. M.; SMITH, R. F.; BOSH, R. Van Den; HAGEN, K. S. The integrated control concept. **Hilgardia**, Oakland, v. 29, n. 2, p. 81-101, 1959.

THACKER, J. M. R. **An introduction to arthropod pest control**. Cambridge: Cambridge University Press, 2002. 343 p.

TRIPATHI, A. K.; PRAJAPATI, V.; KUMAR, S. Bioactivity of l-carvone, d-carvone and dihydrocarvone towards three stored product beetles. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 96, n. 5, p. 1594-1601, 2003.

VALENTINE, W. M. Toxicology of selected pesticides, drugs, and chemicals. Pyrethrin and pyrethroid insecticides. **Veterinary clinics of North America: Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 20, n. 2, p. 375-382, 1990.

VENDRAMIM, J. D.; CASTIGLIONI, E. Aleloquímicos, resistência e plantas inseticidas. In: GUEDES, J. C.; COSTA, I. D. da; CASTIGLIONI, E. **Bases e técnicas do manejo de insetos**. Santa Maria: UFSM, 2000. p. 113-128.

VIEIRA, P. C.; MAFEZOLI, J.; BIAVATTI, E. M. W.. Inseticidas de origem vegetal, p.105-120. In: CORRÊA, A. G.; VIEIRA, P. C. (Ed.). **Produtos naturais no controle de insetos**. São Carlos: EdUFSCar, 2007. 150 p.

WANG, H.; LIAO, H.; OCHANI, M.; JUSTINIANI, M.; LIN, X.; YANG, L.; AL-ABED, Y.; WANG, H.; METZ, C.; MILLER, E. J.; TRACY, K. J.; ULLOA, L. Cholinergic agonists inhibit HMGB1 release and improve survival in experimental sepsis. **Nature Medicine**, New York, v. 10, n. 11, p. 1216-1221, 2004.

WARE, G. W.; WHITACRE, D. M. An introduction to insecticides. (4<sup>th</sup> edition). In: WARE, G. W. (Ed.). **The pesticide book**. Willoughby: Meister, 2004. Disponível em: <<http://ipmworld.umn.edu/chapters/ware.htm>>. Acesso em: 4 abr. 2012.

WINK, M. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. **Phytochemistry**, Amsterdam, v. 64, n. 1, p. 3-19, 2003.

YANG, N.-W.; LI, A.-L.; WAN, F.-H.; LIU, W.-X.; JOHNSON, D. Effects of plant essential oils on immature and adult sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci* biotype B. **Crop Protection**, Guildford, v. 29, n. 10, p. 1200-1207, 2010.

ZANNO, P. R.; MIURA, E.; NAKNISHI, K.; ELDER, D. L. Structure of the insect phagorepellent azadirachtin. **Journal of the American Chemical Society**, v. 97, n. 7, p. 1975-1977, 1975.

ZOUBIRI, S.; BAALIOUAMER, A. Chemical composition and insecticidal properties of some aromatic herbs essential oils from Algeria. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 129, n. 1, p. 179-182, 2011.

## Uso de Óleo da Casca da Laranja no Controle da Mosca-negra-dos-citros

Rêmulo Araújo Carvalho

---

### A mosca-negra-dos-citros

A mosca-negra-dos-citros (*Aleurocanthus woglumi* Ashby, 1915) é um pequeno inseto (Figura 1A) que mede pouco mais de 1 mm, da ordem Hemiptera e da família Aleyrodidae (CABI, 2012). Ela não é propriamente uma mosca, pois as moscas pertencem à ordem Diptera, mas esse nome se popularizou inclusive na língua inglesa na qual é chamada de “blackfly”. É uma praga invasora, de origem asiática, que se espalhou pelo mundo, foi detectada no Brasil em 2001 no estado do Pará e foi disseminada para outros estados (RONCHI-TELES et al., 2009). Ela pode reduzir drasticamente a produção de frutos na citricultura devido à incalculável quantidade de insetos encontrados sugando a seiva das plantas, quando são atingidos altos níveis de infestação (HEU; NAGANINE, 2001). A mosca-negra-dos-citros é reconhecida por ser uma espécie polí-faga, capaz de atacar várias árvores frutíferas, mas tem preferência pelas laranjeiras (especialmente a mimo-do-céu), tangerineiras e limoeiros, o que justifica o seu nome.

Os insetos adultos (formas aladas) são considerados negros à distância, mas, observados de perto, constata-se que suas asas são acinzentadas e que seus corpos são alaranjados. Eles se agrupam, de preferência, na face inferior das folhas mais jovens, especialmente das brotações, onde se acasalam e fazem posturas, em espirais, de minúsculos ovos amarelos na forma bastonetes recurvados.

Ronchi-Telis et al. (2009) constataram, em experimento realizado em condições de laboratório na Universidade Federal do Amazo-

nas, que o ciclo biológico da mosca-negra-dos-citros foi completado em 72,1 dias, sendo 14,4 dias da postura à eclosão das ninfas, nove dias na fase de 1º ínstar, a única em que as ninfas são móveis e se dispersam pela folha; 6,8 dias como 2º ínstar; 8,3 dias como 3º ínstar e 33,6 dias na fase de 4º ínstar, quando as ninfas apresentam o corpo oval e túrgido, na cor preta, escura e brilhante. Entretanto, esse ciclo biológico é, principalmente, influenciado pela temperatura, podendo ser mais curto em regiões quentes e mais longo em regiões frias.



Fotos: Rêmulo Araújo Carvalho

**Figura 1.** A) Mosca-negra-dos-citros sobre folha de laranjeira; B) Insetos adultos da mosca-negra-dos-citros sobre folha de laranjeira; C) Ovos da mosca-negra-dos-citros sobre folha de laranjeira; D) Formas jovens (ninfas) da mosca-negra-dos-citros sobre folha de laranjeira; E) Folha de laranjeira coberta pelo fungo da fumagina (à esquerda); F) Tangerina parcialmente coberta pela fumagina.

Em 2009, a mosca-negra-dos-citros foi detectada no estado da Paraíba (LOPES et al., 2009) e combatida em 2010 com pulverizações de inseticidas, fato que desagradou aos produtores agroecológicos locais originando uma demanda de pesquisa com produtos alternativos para combater essa praga.

Assim, foi conduzida uma pesquisa agroecológica do controle da mosca-negra-dos-citros entre abril de 2010 e junho de 2011, nos municípios de Remígio e Sapé, PB, com o objetivo de avaliar o efeito do óleo da casca de laranja, entre outros produtos alternativos, no controle dessa praga (CARVALHO, 2011a, 2011d) e identificar as doses mais eficientes no controle de suas diversas fases: adultos, ovos e formas jovens ou ninfas (Figuras 1B, 1C e 1D).

As diversas fases da mosca-negra-dos-citros são encontradas na parte inferior das folhas. Tanto os adultos quanto as ninfas se alimentam da seiva da planta. Como as ninfas sugam muita seiva, elas passam a eliminar excreções açucaradas (“honeydew”) que caem na parte superior das folhas localizadas abaixo (RAGA; COSTA, 2008).

Sobre estas excreções açucaradas que caem na parte superior das folhas, se desenvolve um fungo de micélio escuro, *Capnodium citri*, conhecido por fumagina, capaz de cobrir toda a superfície foliar com seu micélio semelhante a uma fuligem (Figura 1E). Além de ser sugada por milhares de insetos, a planta fica com suas folhas sem receber a luz do sol e sem poder respirar nem realizar a fotossíntese plenamente, causando uma grande queda na produção de frutos. Além da redução da produção, quando existem folhas infestadas próximas aos frutos em desenvolvimento, o mesmo processo que desencadeia a formação da fumagina nas folhas ocorre também nos frutos. Os insetos se alimentam da seiva da planta e excretam substâncias açucaradas que caem sobre os frutos. Assim, o mofo se desenvolve também sobre os frutos (Figura 1F),

desqualificando-os para o mercado *in natura*. Os frutos mofados precisam ser lavados para melhorar a aparência e esse processo aumenta os custos de produção.

### **Óleo de casca de laranja**

O óleo de casca de laranja extraído a frio possui propriedades acaricidas, fungicidas e inseticidas. Comercializado com a denominação de Prev-Am (na América do Norte), é indicado como inseticida, fungicida e acaricida (PREV-AM..., 2014a). No, Brasil, por acomodações de legislação, recebe a adição de boro e nitrogênio e é comercializado como Orobor N1 (OROBOR..., 2014b), mantendo as mesmas características de controle de pragas com a vantagem de fortalecer a planta. Em ambas composições, recebe a adição de surfactantes biodegradáveis que atuam, adicionalmente, na quebra das defesas dos insetos contra a umidade, favorecendo a penetração do óleo de casca de laranja em seus interiores, como também, provocando o afogamento imediato de adultos e dessecamento posterior de ninfas.

### **Efeito do óleo da casca de laranja sobre insetos adultos da mosca-negra-dos-citros**

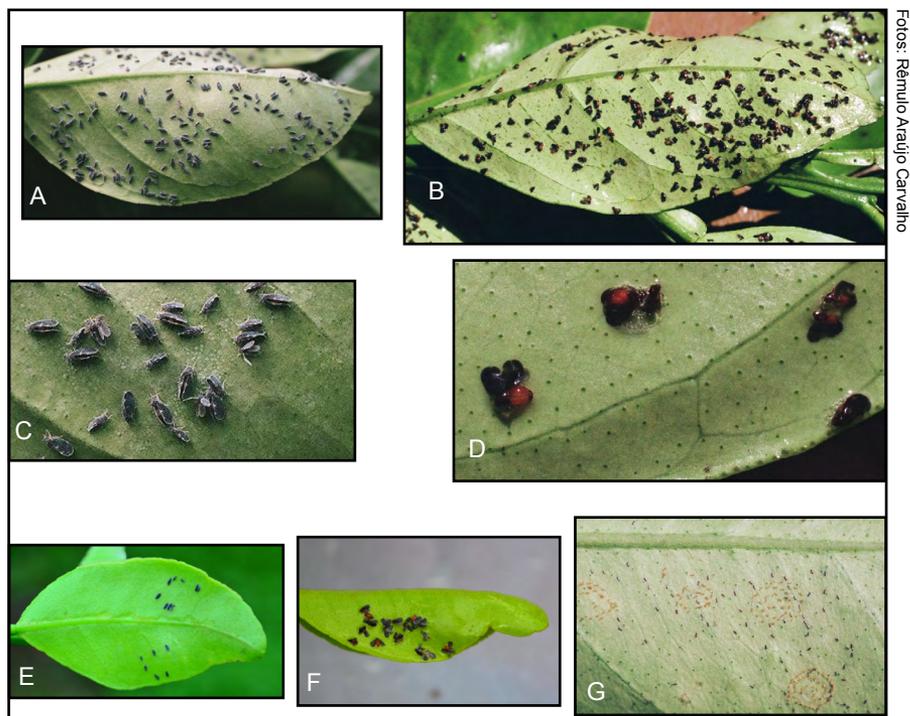
O efeito do óleo de laranja sobre insetos adultos foi pesquisado por Carvalho (2011f) que realizou experimentos utilizando o óleo da casca de laranja em diversas concentrações contra insetos adultos em folhas de laranjeira. O óleo da casca de laranja foi aplicado em galhos contendo folhas infestadas (Figura 2A). As folhas tratadas com o óleo da casca de laranja foram avaliadas ao microscópio estereoscópico imediatamente após sua aplicação sobre os insetos adultos. Essas avaliações comprovaram o efeito letal do óleo de casca de laranja no controle de adultos da mosca-negra-dos-citros,

sendo capaz de matar imediatamente 100% desses insetos em concentrações de 0,2% (Tabela 1).

**Tabela 1.** Número de insetos adultos da mosca-negra-dos-citros mortos e vivos encontrados em 10 folhas de laranjeira pulverizadas com óleo de casca de laranja.

Tratamento	Nº de insetos mortos	Nº de insetos vivos
Controle (água)	0	355
Óleo de casca de laranja 2%	338	0
Óleo de casca de laranja 1%	215	0
Óleo de casca de laranja 0,8%	154	0
Óleo de casca de laranja 0,6%	226	0
Óleo de casca de laranja 0,4%	150	0
Óleo de casca de laranja 0,2%	626	0
Óleo de casca de laranja 0,1%	229	7
Óleo de casca de laranja 0,08%	140	8
Óleo de casca de laranja 0,06%	567	23
Óleo de casca de laranja 0,04%	66	226
Óleo de casca de laranja 0,02%	0	243

O óleo de casca de laranja é comercializado em formulação prontamente solúvel em água. Sua fórmula rica em surfactantes biodegradáveis quebra a tensão superficial da água permitindo um total envolvimento dos insetos pelo líquido da solução pulverizada, asfixiando-os e matando-os em apenas alguns segundos (Figuras 2A-2D).



Fotos: Rômulo Araújo Carvalho

**Figura 2.** A) Adultos vivos antes da pulverização; B) Adultos mortos imediatamente após a pulverização; C) Detalhe de adultos vivos antes da pulverização; D) Detalhe de adultos mortos imediatamente após pulverização; E) Insetos adultos da mosca-negra-dos-citros antes de pulverização com óleo de casca de laranja em folhas de tangerineira; F) Insetos adultos da mosca-negra-dos-citros depois da pulverização com óleo de casca de laranja em folhas de tangerineira; G) Formas jovens (pequenos corpos marrons) que saíram dos ovos pulverizados com óleo de casca de laranja.

Após a comprovação do efeito do óleo de casca de laranja sobre a mortalidade de insetos adultos da mosca-negra-dos-citros em folhas de laranjeira, Carvalho (2011g) realizou experimentos para avaliar a eficiência de baixas concentrações de óleo de casca de laranja no controle de insetos adultos da mosca-negra-dos-citros. Para avaliar a eficiência do óleo de casca de laranja sobre a mortalidade de adultos da mosca-negra-dos-citros foram utilizadas folhas de tangerineira com baixos níveis de infestação. A pequena quan-

tidade de insetos encontrada nas folhas de tangerineira permitiu a contagem de indivíduos vivos antes da pulverização e a contagem de indivíduos mortos após a pulverização, possibilitando assim, medir a eficiência de cada concentração (Figuras 2E e 2F).

Foram testadas as concentrações de 0,5; 0,4; 0,3; 0,2 e 0,1% de óleo de casca de laranja aplicadas através de pulverizador costal. Cada folha de tangerineira foi destacada e pulverizada individualmente sobre um tecido reticulado capaz de reter os insetos expelidos da folha pelo jato da pulverização. Entre as concentrações de 0,5% e 0,2% a eficiência foi de 100% (Tabela 2).

**Tabela 2.** Número de adultos vivos e mortos da mosca-negra-dos-citros, encontrado em 10 folhas de tangerineira pulverizadas com óleo de casca de laranja.

Tratamento	Nº de insetos vivos (antes da pulverização)	Nº de insetos mortos (após a pulverização)	Eficiência
Óleo de casca de laranja 0,5%	94	94	100%
Óleo de casca de laranja 0,4%	113	113	100%
Óleo de casca de laranja 0,3%	140	140	100%
Óleo de casca de laranja 0,2%	69	69	100%
Óleo de casca de laranja 0,1%	73	61	83,5%

### **Efeito do óleo da casca de laranja sobre os ovos da mosca-negra-dos-citros**

Carvalho (2011b) realizou experimentos pulverizando folhas de laranjeira contendo oviposições da mosca-negra-dos-citros com óleo de casca de laranja, entre outros produtos alternativos, e constatou que os ovos da mosca-negra-dos-citros não foram destruídos por aplicações desses produtos alternativos. Nenhum produto testado impediu a eclosão das ninfas (Figura 2G).

### **Efeito do óleo da casca da laranja sobre ninfas de 2º e 3º ínstaes da mosca-negra-dos-citros**

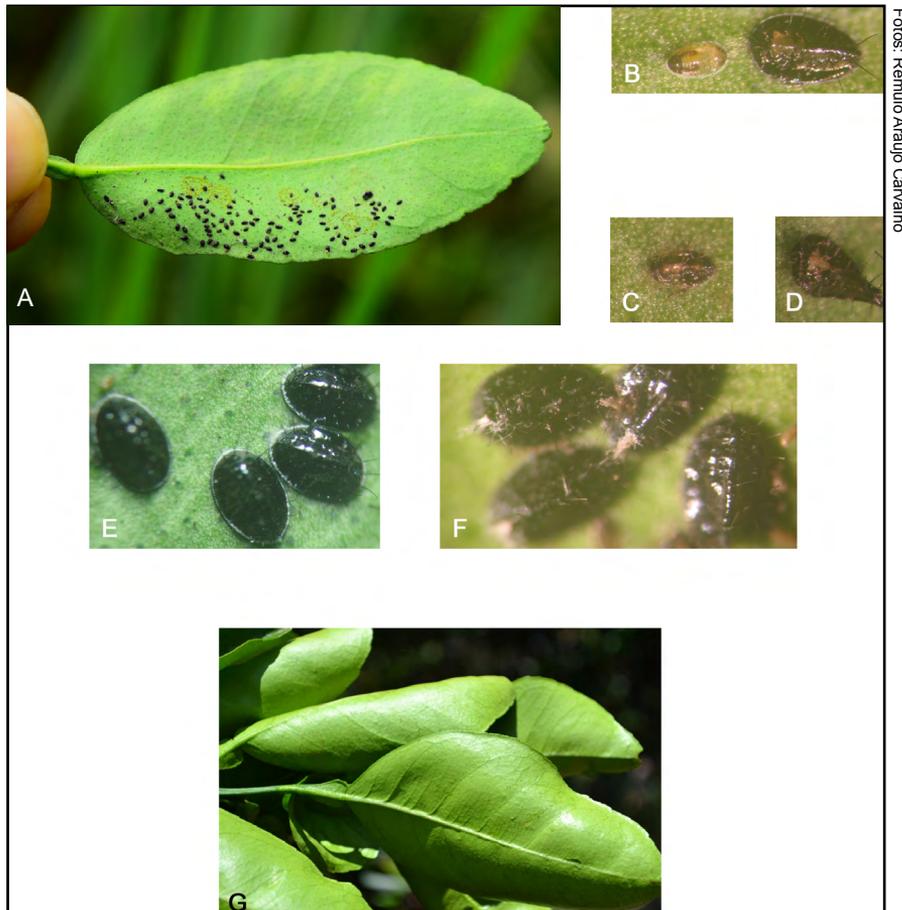
Carvalho (2011e) realizou experimentos pulverizando folhas de limoeiro infestadas com ninfas de 2º e 3º ínstaes da mosca-negra-dos-citros com duas aplicações de óleo de casca de laranja nas concentrações de 0,5; 0,4; 0,3; 0,2 e 0,1 % e constatou que até a concentração de 0,3% a mortalidade das ninfas foi de 100% (Tabela 3).

**Tabela 3.** Número de ninfas de 2º e 3º ínstaes vivas e mortas da mosca-negra-dos-citros, encontrado em 10 folhas de limoeiro pulverizadas com óleo de casca de laranja após duas aplicações.

<b>Tratamento</b>	<b>Nº de ninfas vivas (após a pulverização)</b>	<b>Nº de ninfas mortas (após a pulverização)</b>	<b>Mortalidade</b>
Óleo de casca de laranja 0,5%	0	148	100%
Óleo de casca de laranja 0,4%	0	113	100%
Óleo de casca de laranja 0,3%	0	124	100%
Óleo de casca de laranja 0,2%	30	148	83,1%
Óleo de casca de laranja 0,1%	64	65	50,4%

Devido à grande quantidade de ovos depositados sobre as folhas do hospedeiro atacado é comum encontrar ninfas de mosca-negra-dos-citros de vários ínstares atacando a mesma folha (Figura 3A). Observadas ao microscópio as formas jovens são túrgidas quando estão vivas, antes da aplicação do óleo de casca de laranja (Figura 3B), mas se apresentam secas e deformadas quando mortas, após a aplicação do óleo da casca da laranja (Figuras 3C e D).

Após constatar a mortalidade das ninfas de 2º e 3º ínstares da mosca-negra-dos-citros com duas pulverizações de baixas concentrações de óleo de casca de laranja, Carvalho (2011c) pesquisou o efeito de duas concentrações, 1% e 0,5%, e de 1, 2, 3 e 4 aplicações de óleo de casca de laranja sobre a mortalidade de ninfas de 2º, 3º e 4º ínstares de mosca-negra-dos-citros (Tabelas 4, 5 e 6). Observou-se que as ninfas de 2º e 3º ínstares de mosca-negra-dos-citros são muito susceptíveis ao óleo de casca de laranja, sendo necessária apenas uma aplicação nas concentrações de 1% e de 0,5% para se obter um índice de 100% de mortalidade. Entretanto, a ninfa de 4º instar apresentou maior resistência ao produto, precisando de pelo menos quatro aplicações de óleo de casca de laranja na concentração de 0,5% ou de pelo menos três aplicações de óleo de casca de laranja na concentração de 1% para que fosse obtido o mesmo índice de 100% de mortalidade. Semelhantemente às ninfas de 2º e 3º ínstares, as ninfas de 4º instar se apresentam túrgidas e brilhantes ao microscópio quando estão vivas antes de ser pulverizadas com o produto (Figura 3E) e depois se tornam secas, deformadas e, geralmente, se apresentam sendo decompostas por fungos, quando estão mortas, após a pulverização com óleo de casca de laranja (Figura 3F).



Fotos: Rêmulo Araújo Carvalho

**Figura 3.** A) Formas jovens (ninfas) da mosca-negra-dos-citros em folhas de limoeiro; B) Ninfas vivas, que não foram pulverizadas, de 2º e 3º estágios fotografadas ao microscópio; C) e D) Ninfas mortas de 2º e 3º estágios fotografadas ao microscópio após duas pulverizações com óleo de casca de laranja; E) Ninfas vivas de 4º estágio, fotografadas ao microscópio, que não foram pulverizadas; F) Ninfas mortas de 4º estágio, fotografadas ao microscópio, após três pulverizações com óleo de casca de laranja; G) Folhas de laranjeira emitidas por árvore pulverizada 16 vezes com óleo de casca de laranja a 0,5%.

**Tabela 4.** Efeito de concentrações e número de pulverizações de óleo de casca de laranja sobre a mortalidade de ninfas de 2º ínstar de mosca-negra-dos-citros em 10 folhas de limoeiro.

Tratamento	Nº de pulverizações	Nº de ninfas vivas	Nº de ninfas mortas
Óleo de casca de laranja 1%	1	0	69
Óleo de casca de laranja 0,5%	1	0	55
Óleo de casca de laranja 1%	2	0	103
Óleo de casca de laranja 0,5%	2	0	86
Óleo de casca de laranja 1%	3	0	54
Óleo de casca de laranja 0,5%	3	0	65
Óleo de casca de laranja 1%	4	0	87
Óleo de casca de laranja 0,5%	4	0	74

**Tabela 5.** Efeito de concentrações e número de pulverizações de óleo de casca de laranja sobre a mortalidade de ninfas de 3º ínstar de mosca-negra-dos-citros em 10 folhas de limoeiro.

Tratamento	Nº de pulverizações	Nº de ninfas vivas	Nº de ninfas mortas
Óleo de casca de laranja 1%	1	0	97
Óleo de casca de laranja 0,5%	1	0	79
Óleo de casca de laranja 1%	2	0	171
Óleo de casca de laranja 0,5%	2	0	135
Óleo de casca de laranja 1%	3	0	72
Óleo de casca de laranja 0,5%	3	0	103
Óleo de casca de laranja 1%	4	0	168
Óleo de casca de laranja 0,5%	4	0	141

**Tabela 6.** Efeito de concentrações e número de pulverizações de óleo de casca de laranja sobre a mortalidade de ninfas de 4º instar de mosca-negra-dos-citros em 10 folhas de limoeiro.

Tratamento	Nº de pulverizações	Nº de ninfas vivas	Nº de ninfas mortas
Óleo de casca de laranja 1%	1	38	366
Óleo de casca de laranja 0,5%	1	88	0
Óleo de casca de laranja 1%	2	2	116
Óleo de casca de laranja 0,5%	2	25	103
Óleo de casca de laranja 1%	3	0	129
Óleo de casca de laranja 0,5%	3	9	105
Óleo de casca de laranja 1%	4	0	214
Óleo de casca de laranja 0,5%	4	0	179

## Considerações finais

A mosca-negra-dos-citros pode ser combatida com óleo da casca de laranja sem necessidade de se aplicar agrotóxicos. Os produtos comerciais contendo o óleo da casca de laranja são biodegradáveis, não têm efeito residual contra outros insetos e nem oferecem riscos para as abelhas, podendo, assim, ser utilizados em técnicas de manejo integrado ou de controle alternativo não só da mosca negra como também de outras pragas da citricultura.

O controle de insetos adultos produz resultados imediatos, pois os insetos morrem sufocados logo após a pulverização com óleo de casca de laranja. Porém, a mortalidade das ninfas é difícil de ser visualizada a olho nu, visto que as mesmas não caem após a aplicação do óleo de casca de laranja, podendo dar a falsa impres-

são de que o produto é ineficiente. Todavia, análises realizadas ao microscópio comprovam o poder dessecante do óleo de casca de laranja resultante de uma aplicação sobre ninfas de 2º e 3º instares e de três aplicações sobre as ninfas de 4º instar ou pupas.

Numa estratégia de controle da mosca-negra-dos-citros é preciso lembrar que ela tem a capacidade de se abrigar em outras plantas e em outras árvores frutíferas como a mangueira, a jaqueira ou o abacateiro, podendo sempre retornar para atacar as laranjeiras, limoeiros e tangerineiras. Assim, para se conviver com essa praga, sem que cause danos econômicos, necessário se faz pulverizar os plantios de maneira continuada. Em áreas muito infestadas, os plantios devem ser pulverizados semanalmente. À medida em que a população de insetos for diminuindo, as pulverizações podem passar a ser realizadas a cada quinze dias ou a cada mês.

Carvalho (2011b) não detectou efeito fitotóxico sobre folhas de laranjeira, após realizar 16 pulverizações semanais de óleo de casca de laranja na concentração de 0,5%. O produto testado (Orobor N1), além de controlar a mosca-negra-dos-citros e a fumagina, promoveu brotações saudáveis, livres de pragas, de fungos e de sintomas de fitotoxicidade, pois sua formulação comercial contendo 1% de nitrogênio e 0,1 % de boro favorece uma melhor recuperação da planta após a eliminação da mosca-negra (Figura 3G).

## Referências

CABI. *Aleurocanthus woglumi* (citrus blackfly) - Invasive species compendium. 2012. Disponível em: <<http://www.cabi.org/isc/?compid=5&dsid=4137&loadmodule=datasheet&page=481&site=144>> Acesso em: 21 Mar. 2012.

CARVALHO, R. A. Alternative control of citrus blackfly in the Northeast of Brazil. **Phytopathology**, St. Paul, v. 101, n. 6, p. S27, 2011a. Supplement.

CARVALHO, R. A. Controle alternativo da mosca-negra-dos-citros. João Pessoa: Emepa. 2011b. 250 p. il. (Relatório Técnico).

CARVALHO, R. A. Controle da mosca-negra-dos-citros com óleo de casca de laranja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE DEFENSIVOS NATURAIS, 5., 2011, Jaguariúna. **Anais...** Jaguariúna, Embrapa Meio Ambiente, 2011c.

CARVALHO, R. A. Effect of alternative products on mortality of adults of citrus blackfly *Aleurocanthus woglumi* Ashby, 1915 on leaves of orange trees. **Phytopathology**, St. Paul, v. 101, n. 6, p. S27, 2011d. Supplement.

CARVALHO, R. A. Effect of concentrations of orange oil on mortality of 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> instar larvae of citrus blackfly *Aleurocanthus woglumi* on leaves of lemon trees. **Phytopathology**, St. Paul, v. 101, n. 6, p. S28, 2011e. Supplement.

CARVALHO, R. A. Effect of concentrations of orange peel oil on mortality of adults of citrus blackfly *Aleurocanthus woglumi* Ashby, 1915 on leaves of orange trees. **Phytopathology**, St. Paul, v. 101, n. 6, p. S29, 2011f. Supplement.

CARVALHO, R. A. Efficiency of concentrations of orange peel oil on mortality of adults of citrus blackfly *Aleurocanthus woglumi* on leaves of tangerine trees. **Phytopathology**, St. Paul, v. 101, n. 6, p. S28, 2011g. Supplement.

HEU, R. A.; NAGAMINE, W. T. **Citrus blackfly *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Homoptera : Aleyrodidae)**. Honolulu: State of Hawai, Department of Agriculture, 2001. 2p. (New Pest Advisory, n. 99-03). Disponível em: <[http://hdoa.hawaii.gov/pi/files/2013/01/npa99-03\\_citrusbf.pdf](http://hdoa.hawaii.gov/pi/files/2013/01/npa99-03_citrusbf.pdf)> Acesso em: 22 abr. 2016.

LOPES, E. B.; ALBUQUERQUE, I. C. de; COSTA, F. R. da; BORGES, J. A. de M. **Relatório técnico-fitossanitário mosca-negra-dos-citros (*Aleurocanthus woglumi* Ashby) (Hemiptera: Aleyrodidae) chega à Paraíba**. Lagoa Seca: Emepa, 2009. 17 p.

OROBOR n1: fertilizante foliar. Arapongas : Oroagri Brasil, [2014?]. 2 p. Disponível em: <<http://static1.squarespace.com/static/53eaa60ae4b01a40d5bc27c9/t/53fcdb7de4b0408d593cc85d/1409080189346/Rotulo-Orobor+N1-5Lts-140x135.pdf>>. Acesso em: 22 abr. 2016.

PREV-AM ultra: fungicide, insecticide and miticide. Fresno, CA: Oroagri, [2014?]. 12 p. Disponível em: <<http://static1.squarespace.com/static/53eaa60ae4b01a40d5bc27c9/t/56d4bb4b5559864dfe47fb18/1456782160954/PREV-AM+ULTRA%28USA%29LABEL+-+v2014219.pdf>>. Acesso em : 22 abr. 2016.

RAGA, A.; COSTA, V. A. **Mosca negra dos citros**. São Paulo: Instituto Biológico, 2008. 9 p. il. (Documento Técnico, 1). Disponível em: <[http://www.biológico.sp.gov.br/docs/dt/mosca\\_negra.pdf](http://www.biológico.sp.gov.br/docs/dt/mosca_negra.pdf)> . Acesso em: 2 jun. 2011.

RONCHI-TELES, B.; PENA, M. R. S.; MARQUES, N. M. Observações sobre a ocorrência de Mosca-Negra-dos-Citros, *Aleurocanthus woglumi* Ashby, 1915 (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodidae) no estado do Amazonas. Manaus. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 39, n. 1, p. 241-244, 2009.

## Nim no Controle de Pragas: Eficiência, Seletividade e Fitotoxicidade

Madelaine Venzon, Maria Augusta Pereira Lima, Elaine Ferrari Brito, Sebastião Martins Filho, Juliana Maria Oliveira, André Lage Perez, Marcus Vinicius Alfenas Duarte e Elem Fialho Martins

---

### Introdução

O nim indiano, *Azadirachta indica* A. Juss, Meliaceae, está entre as principais plantas estudadas para uso na medicina, na indústria e na agricultura. Preparações à base de nim têm sido avaliadas para o controle de mais de 500 espécies de insetos e ácaros e cerca de 400 destas foram relatadas como suscetíveis a diferentes concentrações e formulações (KOUL; WAHAB, 2004). Mais de 140 ingredientes ativos são encontrados nas diferentes partes da árvore do nim, sendo que os componentes mais ativos são as azadiractinas, compostos utilizados na maioria dos produtos comerciais à base de nim. As azadiractinas têm como características o largo espectro de ação contra insetos desfolhadores e pragas de grãos armazenados e de sementes; a propriedade de agir sistemicamente na planta; a ausência de resistência pelas populações de insetos, devido à mistura de ingredientes ativos; a baixa toxicidade aos mamíferos; a ausência de resíduos tóxicos nos alimentos; e a disponibilidade de matéria prima (diferente de muitos inseticidas botânicos), uma vez que a árvore do nim pode ser cultivada em solos pobres, é resistente à seca e sua madeira pode ser explorada comercialmente (KOUL; WAHAB, 2004; SINGH et al., 2008).

O modo de ação dos produtos à base de nim sobre os insetos é diferente da maioria dos inseticidas convencionais, pois não causam a morte imediata das espécies alvo. A azadiractina, além de outros componentes minoritários do nim, como nimbina e salanina, são fortes deterrentes alimentares. Esses limonóides promovem uma redução dos movimentos das paredes do intestino, resultando na morte do inseto por inanição (SINGH et al., 2008). As azadiractinas também atuam no sistema hormonal dos insetos, bloqueando a liberação dos hormônios responsáveis pela biossíntese da ecdise, impedindo as etapas normais da troca de muda. Além disto, podem inibir a maturação dos ovos dos insetos e afetar a reprodução interferindo na síntese e captação de vitelogenina, proteína precursora de nutrientes para os embriões, resultando na redução da fecundidade e esterilidade. Outros efeitos como alterações no comportamento, repelência, atraso no desenvolvimento e mortalidade também foram descritos (MORDUE; NISBET, 2000; SINGH et al., 2008).

Apesar do potencial de produtos à base de nim no controle de pragas, relatos científicos apontam a necessidade de avaliação cautelosa de cada produto. Informações técnicas essenciais, como as concentrações necessárias para um controle satisfatório, as quais variam com a formulação, os efeitos sobre os principais organismos benéficos associados ao agroecossistema considerado e a fitotoxicidade, devem nortear o uso de produtos à base de nim. Neste capítulo serão apresentadas informações sobre a eficiência, a seletividade a inimigos naturais e a polinizadores, e a fitotoxicidade de produtos à base de nim utilizando como exemplo trabalhos conduzidos pela Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG) em parceria com a Universidade Federal de Viçosa (UFV), com a utilização de produtos à base de nim no controle de ácaros fitófagos, além de informações disponibilizadas na literatura.

## Importância dos ácaros

Os ácaros destacam-se como um grupo de pragas responsáveis por causarem prejuízos significativos na produção agrícola. No Brasil, segundo Moraes e Fletchmann (2008), entre 20 a 30 espécies de ácaros causam sérios danos às plantas cultivadas. A maioria dos ácaros alimenta-se de tecidos vegetais, através da introdução dos seus estiletos no tecido foliar e da alimentação do conteúdo celular. Os sintomas de ataque e a intensidade dos danos provocados às culturas variam com a espécie de ácaro e de planta. Algumas espécies de ácaros que ocorrem em diversas culturas e que frequentemente causam prejuízos são o ácaro-branco *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) (Acari: Tarsonemidae), o ácaro-rajado *Tetranychus urticae* Koch, o ácaro-vermelho *Tetranychus evansi* Baker e Pritchard e o ácaro-vermelho-do-cafeeiro *Oligonychus ilicis* (McGregor) (Acari: Tetranychidae) (GALLO et al., 2002; MORAES; FLETCHMANN, 2008).

O ácaro-branco, *P. latus*, é uma praga polífaga de ampla distribuição, tendo sido registrado em mais de 60 famílias de plantas (GERSON, 1992). Ataca, preferencialmente, partes jovens das plantas, como folhas, flores e frutos em desenvolvimento. Como consequência, em geral, as folhas tornam-se encurvadas para baixo, ocorre paralisia do crescimento das gemas terminais e há formação de tufos de pequenas folhas deformadas (CHO et al., 1996).

O ácaro-rajado, *T. urticae*, é espécie polífaga e cosmopolita (MORAES; FLETCHMANN, 2008). Após a colonização das plantas, o ácaro-rajado tece, na face inferior das folhas, um entrelaçado de fios de seda que posteriormente apresenta característica de uma teia. Sobre essa teia a fêmea realiza a oviposição, podendo, também depositar os ovos diretamente sobre a superfície foliar. Os sintomas associados à alimentação do ácaro-rajado são geralmente evidenciados pelo bronzeamento das folhas. Em ataques intensos,

as folhas tornam-se necróticas e caem, e os danos refletem em prejuízos na produção.

O ácaro-vermelho, *T. evansi*, ocorre em plantas da família Solanaceae, principalmente em cultivos de tomate, batata e berinjela (MORAES; FLETCHMANN, 2008; ROSA et al., 2005). Os sintomas de ataque são semelhantes aos do ataque de *T. urticae*. O ácaro vermelho produz grande quantidade de teia, o que dificulta a ação de predadores, levando ao rápido crescimento populacional da praga (SABELIS; BAKKER, 1992; VENZON et al., 2009).

O ácaro-vermelho-do-cafeeiro, *O. ilicis*, é uma das espécies de ácaros fitófagos mais frequentes na cultura do café. Seus danos se devem ao fato de perfurarem as células das folhas e absorverem o conteúdo celular levando as folhas a perderem o brilho natural, tornando-as bronzeadas. Em consequência do ataque ocorre diminuição da área fotossinteticamente ativa das folhas, resultando em prejuízos ao desenvolvimento das plantas e em redução da produção (REIS; ZACARIAS, 2007)

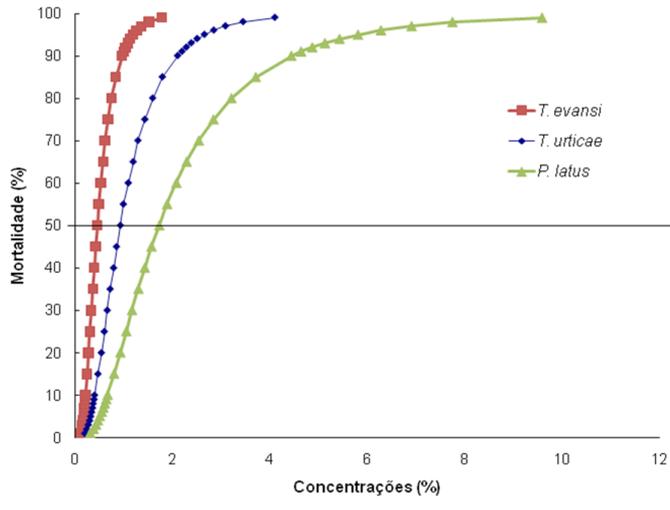
O controle de ácaros tem sido feito, na maioria das vezes, com a utilização de acaricidas sintéticos. Apesar da facilidade de aquisição e de uso, problemas como o desenvolvimento de resistência dos ácaros ao uso contínuo de determinados ingredientes ativos, a alta toxicidade dos produtos aos aplicadores e a falta de cumprimento dos prazos de carência estão frequentemente associados ao uso exclusivo e contínuo do controle químico. Soma-se a esses fatores negativos, o custo elevado dos produtos, o que tem onerado a produção. Além disso, para algumas culturas não há nenhum princípio ativo registrado. Já para sistemas de produção onde a utilização do controle químico não é permitida, como o orgânico, há carência de produtos fitossanitários com eficiência comprovada no controle de ácaros. Nesse contexto, o nim pode representar uma alternativa para o controle de ácaros em alguns sistemas agrícolas.

## Eficiência do nim no controle de ácaros fitófagos

Os produtos derivados do nim têm demonstrado grande potencial de uso para o controle de ácaros em diversas culturas (COTE et al., 2002; DIMETRY et al., 1993; MAKUNDI; KASHENGE, 2002; MANSOUR; ASCHER, 1983; MANSOUR et al., 1993, 1997; MARTÍNEZ-VILLAR et al., 2005; SANGUANPONG; SCHMUTEERER, 1992; VENZON et al., 2005; 2008a, 2008b).

A suscetibilidade dos ácaros ao nim varia com a espécie de ácaro, com a concentração e com a formulação do produto utilizado (VENZON et al., 2008a). Por exemplo, para o ácaro-branco *P. latus*, doses crescentes do extrato de semente de nim (NeemAza<sup>TM</sup> T/S, 10 g/L de azadirachtina (AZA) provocaram redução da taxa instantânea de crescimento populacional até que valores negativos fossem atingidos quando foram aplicadas concentrações do produto acima de 0,13 g/L de AZA, acarretando, nessas doses, extinção local da população (VENZON et al., 2008b). Já para o ácaro-vermelho-do-cafeeiro, *O. ilicis*, foram obtidos valores negativos para a taxa de crescimento populacional com concentrações menores do mesmo produto (acima de 0,065 g/L de AZA) (VENZON et al., 2005).

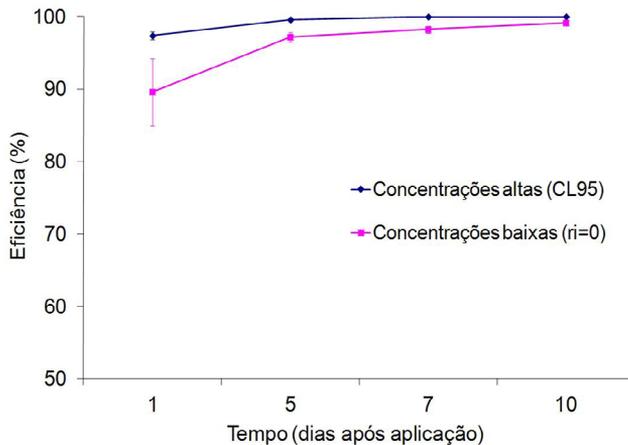
O ácaro-branco *P. latus* mostrou-se também mais resistente ao nim do que duas outras espécies de ácaros. Para o produto Organic neem<sup>®</sup> (3,3 g/L de AZA) a concentração letal capaz de matar 50% da população ( $CL_{50}$ ) dessa espécie foi 1,73%, 1,8 vezes superior à  $CL_{50}$  para *T. urticae* ( $CL_{50}=0,94\%$ ) e 3,76 vezes superior à de *T. evansi* ( $CL_{50}=0,46\%$ ) (Figura 1).



**Figura 1.** Toxicidade aguda do Organic Neem® (3,3 g/L de AZA) aos ácaros adultos *Tetranychus urticae*, *Tetranychus evansi* e *Polyphagotarsonemus latus* em laboratório. Fonte: Venzon et al. (2010).

Quando a eficiência dos produtos for avaliada, é importante também considerar o modo de ação mais lento dos produtos à base de nim, em relação aos produtos convencionais. Assim, além dos efeitos letais, há de se considerar os efeitos subletais do produto sobre a população das pragas. Pode-se inclusive obter um controle satisfatório das populações das pragas, utilizando-se doses subletais. Em experimento realizado em casa de vegetação com três produtos à base de nim (NeemPro 10 g/L de AZA, Organic Neem® 3,3 g/L de AZA e Natuneem® 1,5 g/L de ZA), verificou-se que um dia após a pulverização de plantas de tomate infestadas com *T. evansi*, o controle proporcionado pelas concentrações letais (CL95) (NeemPro 81,0 i.a./L, Natuneem® 31,1 mg i.a./L e Organic Neem® 39,1mg i.a./L) foi superior àquele proporcionado por concentrações subletais correspondentes à taxa instantânea de crescimento populacional ( $r_i$ ) igual a zero (NeemPro 71,6 mg i.a./L, Natuneem® 20,4 mg i.a./L, Organic Neem® 30,4 mg i.a./L). Entretanto, cinco

dias após a pulverização, para ambas as concentrações, a redução populacional de *T. evansi* atingiu valores superiores a 95% (SOTO et al., 2010) (Figura 2).



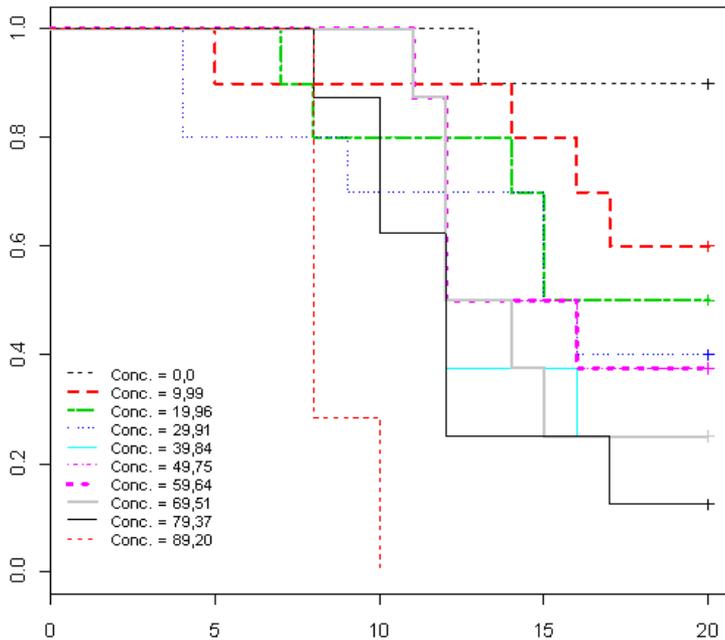
**Figura 2.** Porcentagem de eficiência de produtos à base de nim (NeemPro, Organic Neem® e Natuneem®) para o controle de *Tetranychus evansi* em tomate, em casa de vegetação, com concentrações altas (CL95) e baixas ( $ri=0$ ), ao longo do tempo. Fonte: Soto et al. (2010).

## Seletividade a inimigos naturais

Algumas espécies de inimigos naturais são menos suscetíveis ao nim devido ao seu comportamento e fisiologia (AKOL et al., 2002; SCHMUTTERER, 1997); no entanto, a seletividade do nim está diretamente relacionada à concentração e à formulação empregadas (SILVA; MARTINEZ, 2004; VENZON et al., 2008a). Para o ácaro predador *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma (Acari: *Phytoseiidae*), inimigo natural frequentemente associado ao ácaro-vermelho-do-cafeeiro *O. ilicis*, os extratos de folha e de semente foram pouco tóxicos, já o extrato de óleo da torta de nim foi altamente tóxico (MOURÃO et al., 2004).

O óleo de nim (0,5% de AZA) foi seletivo ao predador *Cycloneda sanguinea* L. (Coleoptera: Coccinellidae), exceto na máxima dosagem (5 mL/L) testada, quando apresentou toxicidade média às larvas do predador (SILVA; MARTINEZ, 2004). Para outro coccinélídeo, *Eriopis connexa* (Germar), mesmo em baixas dosagens (0,25 e 0,5%) o extrato de semente de nim (NeemazaI™ 10 g/L de AZA) teve efeito negativo sobre o predador. Quando as larvas se alimentaram de presas em plantas pulverizadas com nim, a viabilidade pupal foi inferior a 10% e não houve emergência de adultos (VENZON et al., 2007).

Para o predador generalista *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae), que ocorre em diversos agroecossistemas e cujas larvas se alimentam de insetos e ácaros, a exposição em laboratório a resíduos do produto Neempro (10 g/L de AZA), na concentração de 1%, causou 100% de mortalidade larval após 28 dias da exposição. Adicionalmente, o produto causou repelência e alterou o comportamento das larvas do predador, o que em condições naturais, pode mitigar o efeito negativo do produto sobre o predador (CORDEIRO et al., 2010). Além disso, os efeitos negativos do nim sobre esse predador podem ser atenuados através da utilização de concentrações mais baixas dos produtos (Figura 3).



**Figura 3.** Sobrevivência ( $S(t)$ ) de larvas de *Chrysoperla externa* expostas a diferentes concentrações ( $\text{mg(i.a.)L}^{-1}$ ) de Neempro (10 g/L de AZA). Os resultados dos bioensaios de mortalidade foram submetidos a análises de sobrevivência, nas quais as curvas de sobrevivência foram obtidas a partir de estimadores Kaplan-Meyer. Fonte: Miranda (2012).

Um estudo conjunto, portanto, é necessário para avaliar as concentrações mínimas para o controle da praga-alvo e o efeito dessas concentrações sobre os inimigos naturais. Na avaliação da sobrevivência do ácaro predador *Amblyseius herbicolus* (Chant) (Acarí: Phytoseiidae) exposto às concentrações utilizadas em casa de vegetação para controle de *P. latus* (Azamax® 497 mg/L de AZA A e B, Organic Neem® 62 mg/L de AZA e Neemseto® 49 mg/L de AZA) foi verificado que todos os produtos suprimiram a população do predador em menos de 6 horas, sendo que o produto Neemseto® precisou de apenas 2h 30min para extinguir a população de *A.*

*herbicolus* (BRITO, 2010). É importante ressaltar que esse estudo de seletividade foi feito em placas de Petri vedadas, em laboratório, onde o predador não teve como expressar o comportamento de escape provocado pela repelência dos produtos. Quando os estudos são conduzidos em situação de semi-campo, como em plantas em casa de vegetação, têm-se resultados mais próximos àqueles que ocorrem em situação de campo.

Em pesquisas realizadas na EPAMIG, Zona da Mata, em parceria com a UFV, verificou-se a ação de produtos à base de nim e o predador *Phytoseiulus macropilis* (Banks) (Acari: Phytoseiidae) para o controle do ácaro-rajado *T. urticae* na cultura do morango (SOTO, 2009) As concentrações dos produtos à base de nim foram previamente avaliadas em laboratório e selecionaram-se aquelas onde o crescimento populacional do predador foi positivo ( $r_i > 0$ ). A aplicação conjunta dos produtos e a liberação do predador apresentaram os maiores níveis de controle de *T. urticae* em plantas de morango dez dias após a aplicação dos produtos nestas concentrações (Tabela 1). Nesta mesma data houve incremento da população de *P. macropilis* semelhante ao das plantas sem aplicação do produto, exceto para o produto Natuneem® (Tabela 2).

**Tabela 1.** Porcentagem de redução populacional (RP) de *Tetranychus urticae* em morangueiro após a aplicação de produtos à base de nim com e sem a presença de *Phytoseiulus macropilis*. Fonte: Soto (2009).

<sup>(1)</sup> Tratamentos	RP (%) <sup>(2)</sup> 1 DAA	RP (%) 7 DAA	RP (%) 10 DAA
T.u. + <i>P.m.</i>	53,4 ± 11,22 a	94,6 ± 1,02 b	94,2 ± 0,34 b
<i>T.u.</i> + <i>P.m.</i> + NeemPro	66,5 ± 08,17 a	99,0 ± 0,16 a	99,8 ± 0,12 a
<i>T.u.</i> + NeemPro	57,6 ± 14,00 a	94,6 ± 1,40 b	87,9 ± 3,56 c
<i>T.u.</i> + <i>P.m.</i> + Organic Neem	52,3 ± 14,52 a	95,3 ± 1,36 b	96,7 ± 0,98 a
<i>T.u.</i> + Organic Neem	43,5 ± 13,64 a	82,8 ± 1,93 c	75,1 ± 3,83 d

Continua...

**Tabela 1.** Continuação

<sup>(1)</sup> Tratamentos	RP (%) <sup>(2)</sup> 1 DAA	RP (%) 7 DAA	RP (%) 10 DAA
<i>T.u.</i> + <i>P.m.</i> + Natuneem	56,0 ± 13,48 a	96,7 ± 0,77 b	97,9 ± 0,65 a
<i>T.u.</i> + Natuneem	42,2 ± 15,02 a	86,4 ± 2,52 c	83,8 ± 3,03 c

<sup>(1)</sup> *T.u.* = *Tetranychus urticae*; *P.m.* = *Phytoseiulus macropilis*; NeemPro (103,91 mg/L de AZA), Organic Neem® (18,38 mg/L de AZA) e Natuneem® (21,0 mg/L AZA). <sup>(2)</sup> DAA = Dias após a aplicação. NOTA: Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

**Tabela 2.** População média (ácaros/planta) (± DP) do predador *Phytoseiulus macropilis* em morangueiro após a aplicação de produtos à base de nim. Fonte: Soto (2009).

<sup>(1)</sup> Tratamentos	<sup>(2)</sup> 1 DAA	<sup>(2)</sup> 7 DAA	<sup>(2)</sup> 10 DAA
<i>T.u.</i> + <i>P.m.</i>	3,7 ± 0,25 a	12,8 ± 1,1 a	15,4 ± 2,13 a
<i>T.u.</i> + <i>P.m.</i> + NeemPro	3,0 ± 0,41 b	8,8 ± 0,89 b	15,3 ± 0,95 a
<i>T.u.</i> + <i>P.m.</i> + Natuneem	3,7 ± 0,31 a	9,5 ± 1,22 b	12,0 ± 1,00 b
<i>T.u.</i> + <i>P.m.</i> + Organic Neem	3,7 ± 0,38 a	10,3 ± 1,47 b	14,0 ± 0,95 ab

<sup>(1)</sup> *T. u.* = *Tetranychus urticae*; *P.m.* = *Phytoseiulus macropilis*; NeemPro (103,91 mg/L de AZA), Organic Neem® (18,38 mg/L de AZA) e Natuneem® (21,0 mg/L AZA). <sup>(2)</sup> DAA = Dias após a aplicação. NOTA: Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P>0,05)

## Toxicidade a polinizadores

A maioria das plantas nativas e cultivadas depende dos polinizadores para a produção de frutos e sementes, sendo as abelhas os principais vetores de pólen (revisado por KLEIN et al., 2007) devido às adaptações corporais e à frequência com que visitam as flores (BATRA, 1995). Consequentemente, a baixa abundância desses insetos pode ocasionar uma dispersão ineficiente dos grãos de pólen, levando à diminuição ou à interrupção da produção de frutos (WILCOCK; NEILAND, 2002). Atualmente, a redução nas populações de *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) e abelhas nativas

em diversas partes do mundo vem causando preocupações entre os apicultores, agricultores e comunidade científica (ENGELSDORP et al., 2009; OLDROYD, 2007). Apesar da associação entre a redução nas populações de abelhas e o uso de inseticidas ainda não ter sido confirmada, estudos recentes têm demonstrado um significativo aumento na contaminação por pesticidas em abelhas melíferas e produtos apícolas (MULLIN et al., 2010), além de toxicidade letal e subletal em várias espécies avaliadas em condições de laboratório (DESNEUX et al., 2007).

Nesse contexto, o uso de inseticidas botânicos, como os derivados do nim, pode ser uma alternativa importante, caso seja demonstrada menor toxicidade desses produtos sobre a fauna apícola. As abelhas, entretanto, podem ser prejudicadas devido ao contato direto ou indireto com culturas tratadas com produtos à base de nim. Efeitos diretos podem surgir em virtude da ingestão de pólen e néctar contaminados após as pulverizações, e indiretos podem ser consequência de alterações nos voláteis liberados pelas plantas devido à exposição a esses produtos.

Geralmente, pressupõe-se que as operárias forrageiras são as abelhas mais afetadas por inseticidas, em virtude da coleta de alimento nas flores. Porém, compostos derivados do nim podem afetar as larvas, caso sejam transportados e armazenados dentro da colmeia, via pólen e/ou néctar contaminados (NAUMANN; ISMAN, 1996). Devido ao mecanismo de ação da azadiractina sobre os artrópodes, que inclui inibição no crescimento (SCHMUTTERER, 1990), o nim geralmente apresenta maior toxicidade sobre os imaturos do que sobre as abelhas adultas. Além disto, larvas de abelhas necessitam de uma dieta complexa para se desenvolverem e não são capazes de escolherem o próprio alimento, que é fornecido pelas operárias (BRODSGAARD et al., 2003). Estes fatores, em conjunto, as tornam supostamente mais suscetíveis à ingestão de alimentos contaminados com produtos tóxicos.

Devido à importância econômica e como polinizadora, a maioria dos trabalhos que avaliou efeitos do nim em abelhas foi realizada com operárias e larvas de *A. mellifera*. Alguns desses trabalhos não comprovaram toxicidade ou alterações comportamentais causadas pelo nim a abelhas melíferas, porém outras pesquisas relataram que produtos à base de nim podem causar fagoinibição, repelência e toxicidade letal ou subletal a abelhas adultas e imaturas (Tabela 3). Apesar da importância desses resultados, as conclusões obtidas não devem ser extrapoladas para outras abelhas, devido às particularidades fisiológicas e ecológicas de cada espécie. Mesmo os meliponíneos (Apidae: Meliponina), grupo filogeneticamente próximo às abelhas melíferas, responderam de forma diferente aos testes toxicológicos nos quais diferentes espécies foram submetidas ao contato com o mesmo produto na mesma concentração (XAVIER et al., 2010).

Para que sejam utilizados de forma eficaz, os produtos à base de nim devem apresentar inocuidade ou pouca toxicidade às populações de abelhas que visitam as culturas pulverizadas. Uma análise criteriosa do uso desses produtos deve incluir o levantamento das principais espécies de abelhas visitantes das culturas e a realização de testes toxicológicos em indivíduos nos diferentes estágios de desenvolvimento. Esses estudos devem incluir não só avaliações de toxicidade aguda, como também pesquisas sobre efeitos subletais dos produtos na fisiologia e comportamento desses polinizadores. Quando obtidas, essas informações devem ser disponibilizadas aos consumidores para melhor utilização dos compostos que contêm azadiractina.

**Tabela 3.** Toxicidade de produtos derivados do nim em abelhas em diferentes estágios de desenvolvimento.

Espécie testada	Produto testado	Concentração*	Hipótese testada	Abelhas testadas	Resultados	Referência
<i>Apis mellifera</i>	Neemix 4.5	7,8 g i.a./ha	Pulverização com o produto em melão reduz a polinização e consequentemente a produtividade da cultura	Operárias adultas	Não ocorreu decréscimo no número de abelhas visitantes e nem na produtividade	Elzen et al., 2004
<i>Apis mellifera</i>	Azadiractina isolada	1mg i.a./L	A ingestão de azadiractina altera o desenvolvimento da colônia, a viabilidade das rainhas, a produção de zangões ou de espermatozoides ou a mortalidade da cria.	Ovos, larvas, pupas e adultos de operárias, rainhas e zangões	Não ocorreram efeitos de toxicidade aguda nas abelhas tratadas, mas a cria tratada não sobreviveu durante o inverno, ocasionando a morte das colônias.	Thompson et al., 2005
<i>Apis mellifera</i>	Neem-aza™	0,004 a 1,1 mg i.a./ml (diluição em etanol)	A adição de extrato de nim à dieta causa repelência alimentar nas operárias	Operárias adultas	Aumento na concentração de azadiractina causou fagoinibição nas abelhas	Melathopoulos et al., 2000

Continua...

Tabela 3. Continuação

Espécie testada	Produto testado	Concentração*	Hipótese testada	Abelhas testadas	Resultados	Referência
<i>Apis mellifera</i>	Azadiractina purificada	180,92ng/ml (diluição em etanol)	A ingestão de azadiractina aumenta a mortalidade larval	Larvas de operárias	$CL_{50}$ das larvas na concentração mencionada	Peng et al., 2000
<i>Apis mellifera</i>	Extrato de sementes de nim	0,1ppm i.a. diluído em água e misturado a xarope	As operárias são capazes de discriminar entre alimento (xarope) puro e misturado à azadiractina.	Operárias adultas	As operárias forragearam preferencialmente em soluções sem azadiractina	Naumann et al., 1994
<i>Apis mellifera</i>	Extrato de sementes de nim	150 ppm i.a. diluído em água	A pulverização da canola com extrato de nim ocasiona na repelência nas abelhas, reduzindo a polinização e a produtividade da cultura.	Operárias adultas	O número de forrageadoras em flores de canola tratadas e não tratadas não diferiram, assim como a produtividade.	Naumann et al., 1994
<i>Apis mellifera</i>	Óleo de nim	0,05 a 50 ppm i.a. diluído em água	A ingestão e o contato com o produto no interior da célula de cria, ocasiona aumento da mortalidade larval	Larvas de 1° e 4° ínstars	Aumento da mortalidade larval na medida em que houve aumento da concentração do produto	Naumann e Isman, 1996

Continua...

Tabela 3. Continuação

Espécie testada	Produto testado	Concentração*	Hipótese testada	Abelhas testadas	Resultados	Referência
<i>Tetragonisca angustula</i>	Óleo de nim	2ml/L água	O contato com folhas tratadas com óleo de nim aumenta a mortalidade ou altera o comportamento de caminhamento das abelhas	Operárias adultas	Não ocorreu aumento da mortalidade ou alterações no tempo, velocidade e distância de caminhamento pelas abelhas em ensaios laboratoriais	Xavier et al., 2010
<i>Nannotrigona testaceicornis</i>	Óleo de nim	2ml/L água	O contato com folhas tratadas com óleo de nim aumenta a mortalidade ou altera o comportamento de caminhamento das abelhas	Operárias adultas	Não ocorreu aumento da mortalidade ou alterações no tempo, velocidade e distância de caminhamento pelas abelhas em ensaios laboratoriais	Xavier et al., 2010
<i>Apis mellifera</i>	Óleo de nim	196,4 µg/abelha (via oral e por contato)	O contato ou a ingestão do óleo de nim aumenta a mortalidade das abelhas	Operárias adultas	Toxicidade crônica devido ao contato com o óleo de nim; ausência de toxicidade aguda e crônica devido a ingestão e contato com o produto	Ladurner et al., 2005

Continua...

Tabela 3. Continuação

Espécie testada	Produto testado	Concentração*	Hipótese testada	Abelhas testadas	Resultados	Referência
<i>Osmia lignaria</i>	Óleo de nim	196,4 µg/abelha (via oral e por contato)	O contato ou a ingestão do óleo de nim aumenta a mortalidade das abelhas	Fêmeas adultas	Ausência de toxicidade aguda e crônica em consequência do contato e da ingestão do produto.	Ladurner et al., 2005
<i>Apis mellifera</i>	Azamax®, Neemseto® e Organic neem®	12mg i.a./L a 480mg i.a./L diluído em etanol	A ingestão do óleo de nim diluído e misturado ao alimento (xarope) aumenta a mortalidade das abelhas	Operárias adultas	Aumento da mortalidade apenas na concentração de 480mg i.a./L	Amaral, 2011
<i>Apis mellifera</i>	Azamax®	60mg i.a./L e 120mg i.a./L diluído em etanol	A ingestão do óleo de nim misturado ao alimento larval aumenta a mortalidade das larvas	Larvas de 1º instar	Toxicidade aguda com morte de todas as larvas tratadas com as duas concentrações	Amaral, 2011
<i>Bombus terrestris</i>	Neem EC	0,01 ppm i.a. misturado ao alimento	A ingestão de dose subletal de nim altera o forrageamento de pólen pelas abelhas	Operárias adultas	Abelhas provenientes de colônias tratadas apresentaram padrão de coleta de pólen diferente em relação ao controle	Koskor et al., 2009

\* Concentrações obtidas a partir de dados retirados dos trabalhos originais. Sempre que possível, foi demonstrada a concentração com base na proporção do ingrediente ativo (i.a., azadiractina) diluído nos solventes utilizados nos experimentos.

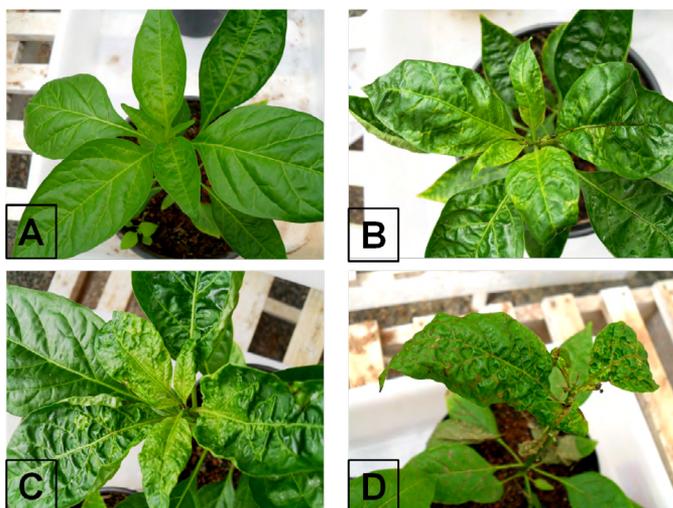
## Fitotoxicidade

Uma das limitações do uso de produtos à base de nim no controle de pragas são os possíveis danos causados pela fitotoxicidade. Estudos demonstram que o efeito fitotóxico do nim pode variar com a planta hospedeira, sua idade e fase de desenvolvimento, além da concentração e formulação do produto (DEQUECH et al., 2008; SOTO et al., 2010; XUAN et al., 2004). Pinheiro e Quintela (2004) observaram que doses acima de 2% de óleo de nim causaram toxicidade às folhas do ápice em plantas de feijão. O produto formulado Dalneem® acima de 10% também causou toxicidade em plantas de feijão-de-vagem (DEQUECH et al., 2008). Soto et al. (2010) verificaram que a formulação comercial Natuneem® (1,5 g/L de AZA) na concentração de 31,1 mg i.a/L causou toxicidade em plantas de tomate.

Em experimento realizado em casa de vegetação para avaliar a fitotoxicidade de três concentrações (0,5; 1,0 e 1,5%) de dois produtos à base de nim, Azamax® (12 g/L de AZA A/B) e Neemseto® (2,4 g/L de AZA A/B, Nimbina e Salanina), em plantas de quiabo e de jiló, verificou-se que o quiabeiro foi mais sensível do que o jiloeiro, exceto quanto utilizou-se o produto Azamax® na menor concentração testada (0,5%) (PACHECO et al., 2011). O produto Neemseto® a 2% foi o que causou maior percentagem de área lesionada nas plantas de quiabo. Não foram observados sintomas de fitotoxicidade causados pela aplicação dos produtos nas plantas de jiló.

Em experimentos realizados em casa de vegetação com a pulverização de três produtos comerciais à base de nim, nas concentrações mínimas necessárias para o controle do ácaro-branco *P. latus* em pimenta malagueta e em pinhão manso (Azamax® 497 mg/L de AZA A e B, Organic Neem® 62 mg/L de AZA e Neemseto® 49 mg/L de AZA), Brito (2010) verificou diferenças significativas na fitotoxicidade entre os produtos e as culturas avaliadas. Não ocorreram sin-

tomas de toxicidade nas plantas de pinhão manso; entretanto, os produtos Azamax® e Neemseto® causaram toxicidade severa às plantas de pimenta malagueta nas avaliações feitas aos cinco e aos dez dias após a aplicação dos produtos. O nível máximo de fitotoxicidade foi causado pelo Neemseto®. As plantas apresentaram perda considerável das folhas da base, o limbo foliar apresentou sintomas de encarquilhamento, manchas cloróticas e queimaduras (Figura 4).



**Figura 4.** Toxicidade dos produtos à base de nim sobre plantas de pimenta-malagueta. (A) Controle; (B) Organic neem® (62 mg/L de AZA); (C) Azamax® (497 mg/L de AZA A e B); e (D) Neemseto® (49 mg/L de AZA). Fonte: Brito (2010).

### Considerações finais

A eficiência dos produtos à base de nim no controle de diversos artrópodes, praga aliada à baixa toxicidade a mamíferos, fazem com que esses produtos sejam recomendados para o manejo de pragas tanto em sistemas convencionais como em sistemas orgânicos de produção. No entanto, sua utilização deve ser baseada na seleti-

vidade a inimigos naturais e a polinizadores, e esta seletividade é obtida pela utilização de formulações e concentrações adequadas, a exemplo do que foi relatado neste capítulo. Da mesma forma, a fitotoxicidade deve ser levada em consideração na escolha do produto e da concentração a ser empregada. A literatura científica já tem grande parte dessas informações, embora para alguns sistemas ainda seja necessário a realização de experimentos que gerem mais segurança quanto ao uso do nim. Especial atenção deve ser dada aos cultivos visitados por abelhas em função do seu papel como polinizadores. É essencial a utilização dessas informações pelos fabricantes dos produtos, que podem disponibilizá-las nos rótulos, e pelos técnicos de extensão, a fim de levar ao produtor informações completas sobre os produtos à base de nim. Muito do insucesso relatado em alguns sistemas onde se utilizou o nim se deve à falta de informação dos usuários sobre o modo de utilização adequado dos produtos e ao uso de produtos de baixa qualidade. Várias marcas disponíveis no mercado possuem conteúdo de ingrediente ativo não padronizado ou formulações adulteradas, que podem conter compostos sintéticos. Neste sentido, é essencial a atuação dos órgãos oficiais de fiscalização para garantir a qualidade do produto a ser adquirido pelo produtor. Portanto, o sucesso do uso do nim no manejo de pragas depende do uso, pela indústria, das informações geradas pela pesquisa, da qualidade dos produtos garantida pela fiscalização oficial, e da extensão dessas informações ao produtor, para que ele tenha acesso a informações acuradas sobre produtos de qualidade.

### **Agradecimentos**

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA/SAD) pelo financiamento das pesquisas em

controle alternativo de pragas. Ao CNPq e à FAPEMIG pela concessão de bolsas aos autores.

## Referências

AKOL, A. M.; SITHANANTHAM, S.; NJAGI, P. G. N.; VARELA, A.; MUEKE, J. M. Relative safety of sprays of two neem insecticides to *Diadegma mollipla* (Holmgren), a parasitoid of the diamondback moth: effects on adult longevity and foraging behaviour. **Crop Protection**, London, v. 21, n. 9, p. 853-859, 2002.

AMARAL, R. L. **Efeito de formulações de nim na sobrevivência de operárias de *Apis mellifera***. 2011. 28 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

BATRA, S. W. T. Bees and pollination in our changing environment. **Apidologie**, Paris, v. 26, n. 5, p. 361-370, 1995.

BRITO, E. F. **Potencialidade de formulações de nim contra o ácaro-branco *Polyphagotarsonemus latus* em pimenta-malagueta e pinhão-manso**. 2010. 45 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa.

BRODSGAARD, H. F.; BRODSGAARD, C. J.; HANSEN, H.; LÖVEI, G. L. Environmental risk assessment of transgene products using honey bee (*Apis mellifera*) larvae. **Apidologie**, Paris, v. 34, n. 2, p. 139-145, 2003.

CHO, M. R.; JEON, H. Y.; LA, S. Y.; KIM, D. S.; CHUNG, B. S.; YIEM, M. S.; KIM, S. B. Host damage of broad mite (*Polyphagotarsonemus latus*) on horticultural crops. **Journal of Agricultural Science**, Suwon, v. 38, n. 1, p. 516-525, 1996.

CORDEIRO, E. M. G.; CORRÊA, A. S.; VENZON, M.; GUEDES, R. N. C. Insecticide survival and behavioral avoidance in the lacewings *Chrysoperla externa* and *Ceraeochrysa cubana*. **Chemosphere**, Oxford, v. 81, n. 10, p.1352-1357, 2010.

COTE, K. W.; LEWIS, E.; SCHULTZ, P. Compatibility of acaricide residues with *Phytoseiulus persimilis* and their effects on *Tetranychus urticae*. **HortScience**, Alexandria, v. 37, n. 6, p. 906-909, 2002.

DEQUECH, S. T. B.; SAUSEN, C. D.; LIMA, G. C.; EGEWATH, R. Efeito de extratos de plantas com atividade inseticida no controle de *Microtheca ochroloma* Stal (Coleoptera: Chrysomelidae) em laboratório. **Biotemas**, Florianópolis, v. 21, n. 1, p. 41-46, 2008.

DESNEUX, N. D.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J. M. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 52, p. 81-106, 2007.

DIMETRY, N. Z.; AMER, S. A. A.; REDA, A. S. Biological activity of two neem seed kernel extracts against the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 116, n. 1-5, p. 308-312, 1993.

ELZEN, P. J.; ELZEN, G. W.; LESTER, G. E. Compatibility of an organically based insect control program with honey bee (Hymenoptera: Apidae) pollination in Cantaloupes. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 97, n. 5, p. 1513-1516, 2004.

ENGELSDORP, D. van; EVANS, J. D.; SAEGERMAN, C.; MULLIN, C.; HAUBRUGE, E.; NGUYEN, B. K.; FRAZIER M.; FRAZIER, J.; COX-FOSTER, D.; CHEN, Y.; UNDERWOOD, R.; TARPY, D. R.; PETTIS, J. S. Colony collapse disorder: a descriptive study. **PLoS ONE**, v. 4, n. 8, e6481, 2009.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C. de; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.

GERSON, U. Biology and control of the broad mite. *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) (Acari: Tarsonemidae). **Experimental Applied Acarology**, Amsterdam, v. 13, n. 3, p. 163-178, 1992.

KLEIN, A. M.; VAISSIÈRE, B. E.; CANE, J. H.; STEFFAN-DEWENTER, I.; CUNNINGHAM, S. A.; KREMEN, C.; TSCHARNTKET, T. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, London, v. 274, n. 1608, p. 303-313, 2007.

KOSKOR, E.; MULJAR, R.; DRENKHAN, K.; KARISE, R.; BENDER, A.; VIK, E.; LUIK, A.; MÄND, M. The chronic effect of the botanical insecticide Neem EC on the pollen forage of the bumble bee *Bombus terrestris* L. **Agronomy Research**, tartu, v. 7, special issue 1, p. 341-346, 2009.

KOUL, O.; WAHAB, S. **Neem**: today and in the new millenium. Dordrecht: Kluwer Academic, 2004. 276 p.

LADURNER, E.; BOSCH, J.; KEMP, W. P.; MAINI, S. Assessing delayed and acute toxicity of five formulated fungicides to *Osmia lignaria* Say and *Apis mellifera*. **Apidologie**, Paris, v. 36, n. 3, p. 449-460, 2005.

MAKUNDI, R. H.; KASHENGE, S. Comparative efficacy of neem, *Azadirachta indica*, extract formulations and the synthetic acaricide, Amitraz (Mitac), against the two spotted spider mites, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae), on tomatoes, *Lycopersicon esculentum*. **Journal of Plant Diseases and Protection**, Stuttgart, v. 109, n. 1, p. 57-63, 2002.

MANSOUR, F.A.; ASCHER, K.R.S. Effects of neem (*Azadirachta indica*) seed kernel extract from different solvents, on the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus*. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 11, n. 3-4, p. 177-185, 1983.

MANSOUR, F. A.; ASCHER, K. R. S.; ABO-MOCH, F. Effects of Margosan-OTM, Azatin-TM and RD9-Repelin on spiders, and on predacious and phytophagous mites. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 21, n. 3, p. 205-211, 1993.

MANSOUR, F.A.; ASCHER, K.R.S.; ABO-MOCH, F. Effects of Neemgard on phytophagous and predaceous mites and spiders. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 25, n. 4, p. 333-336, 1997.

MARTÍNEZ-VILLAR, E; SÁENZ-DE-CABEZÓN, F. J.; MORENO-GRIJALBA, F.; MARCO, V.; PÉREZ-MORENO, I. Effects of azadirachtin on the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). **Experimental and Applied Acarology**, Dordrecht, v. 35, n. 3, p. 215-222, 2005.

MELATHOPOULOS, A. P.; WINSTON, M. L.; WHITTINGTON, R.; SMITH, T.; LINDBERG, C; MUKAI, A.; MOORE, M. Comparative laboratory toxicity of neem pesticides to honey bees (Hymenoptera: Apidae), their mite parasites *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) and *Acarapis woodi* (Acari: Tarsonemidae), and brood pathogens *Paenibacillus* larvae and *Ascospaera apis*. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 93, n. 2, p. 199-209, 2000.

MIRANDA, M. S. **Técnicas não-paramétricas e paramétricas usadas na análise de sobrevivência de *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae)**. 2012. 69 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

MORAES, G. J.; FLECHTMANN, C. H. W. **Manual de acarologia: acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos, 2008. v. 1, 288 p.

MORDUE, A. J.; NISBET, A. J. Azadirachtin from the neem tree *Azadirachta indica*: its action against insects. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 29, n. 4, p. 615-632, 2000.

MOURÃO, S. A.; SILVA, J. C. T.; GUEDES, R. N. C.; VENZON, M.; JHAM, G. N.; OLIVEIRA, C. L.; ZANUNCIO, J. C. Seletividade de extratos de nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) ao ácaro predador *Iphiseiodes zuluagai* (Denmark & Muma) (Acari: Phytoseiidae). **Neotropical Entomology**, Londrina v. 33, n. 5, p. 613-617, 2004.

MULLIN, C. A.; FRAZIER, M.; FRAZIER, J. L.; ASHCRAFT, S.; SIMONDS, R.; ENGELSDORP, D. van; PETTIS, J. S. High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: Implications for honey bee health. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 5, n. 3, p. 1-19, e9754, 2010.

NAUMANN, K.; CURRIE, R. W.; ISMAN, M. B. Evaluation of the repellent effect of a neem insecticide on foraging honey bees and other pollinators. **The Canadian Entomologist**, Toronto, v. 126, n. 2, p. 225-230, 1994.

NAUMANN, K.; ISMAN, M. B. Toxicity of a neem (*Azadirachta indica* A. Juss) insecticide to larval honey bees. **American Bee Journal**, Hamilton, v. 136, n. 7, p. 518-520, 1996.

OLDROYD, B. P. What's killing american honey bees? **PLoS Biology**, San Francisco, v. 5, n. 6, e168, 2007.

PACHECO, A. L. V.; DUARTE, M. V. A.; OLIVEIRA, J. M.; CRUZ, F. A. R.; VENZON, M. Fitotoxicidade de produtos à base de nim sobre plantas de quiabo e jiló. **Cadernos de Agroecologia**, Cruz Alta, v. 6, n. 2, p. 1-5, 2011.

PENG, C. Y. S.; TRINH, S.; LOPEZ, J. E.; MUSSEN, E. C.; HUNG, A.; CHUANG, R. The effects of azadirachtin on the parasitic mite, *Varroa jacobsoni* and its host honey bee (*Apis mellifera*). **Journal of Apicultural Research**, London, v. 39, n. 3-4, p. 159-168, 2000.

PINHEIRO, P. V.; QUINTELA, E. D. **Efeito de extratos de plantas sobre a mortalidade de ninfas de *Bemisia Tabaci* (Genn.) Biótipo B (Hemiptera: aleyrodidae) em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2004. 4 p. (Embrapa Arroz e Feijão. Comunicado Técnico, 95).

REIS, P. R.; ZACARIAS, M. S. **Ácaros em cafeeiro**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2007. 76 p. (EPAMIG. Boletim Técnico, 81).

ROSA, A. A.; GONDIM, M. G. C.; FIABOE, K. K. M.; MORAES, G. J. de; KNAPP, M. Predatory mites associated with *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard (Acari: Tetranychidae) on native solanaceous plants of coastal Pernambuco State, Brazil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, n. 4, p. 689-692, 2005.

SABELIS, M. W.; BAKKER, F. M. How predatory mites cope with the web of their tetranychid prey - a functional view on dorsal chaetotaxy in the phytoseiidae. **Experimental and Applied Acarology**, Dordrecht, v. 16, n. 3, p. 203-225, 1992.

SANGUANPONG, U.; SCHMUTTERER, H. Laboratory trials on the effects of neem oil and neemseed based extracts against the 2-spotted spider-mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Journal of Plant Diseases and Protection**, Stuttgart, v. 99, n. 6, p. 637-646, 1992.

SCHMUTTERER, H. Side effects of neem (*Azadirachta indica*) products on insect pathogens and natural enemies of spider mites and insects. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 121, n. 1-5, p. 1379-1386, 1997.

SCHMUTTERER, H. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 35, p. 271-29, 1990.

SILVA, F. A. C.; MARTINEZ, S. S. Effect of neem seed oil aqueous solutions on survival and development of the predator *Cycloneda sanguinea* (L.) (Coleoptera: Coccinellidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 6, p. 751-757, 2004.

SINGH, K. K.; PHOGAT, S.; TOMAR, A.; DHILLON, R. S. **Neem, a treatise**. New Delhi: I.K. International, 2008. 546 p.

SOTO, A. G. **Manejo alternativo de ácaros em morango e tomate**. 2009. 128 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SOTO, A. G.; VENZON, M.; OLIVEIRA, R. M.; OLIVEIRA, H. G.; PALLINI, A. Alternative control of *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard (Acari: Tetranychidae) on tomato plants grown in greenhouses. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 39, n. 4, p. 638-644, 2010.

THOMPSON, H.; WILKINS, S.; BATTERSBY, A. H.; WAITE, R. J.; WILKINSON, D. The effects of four insect growth-regulating (IGR) insecticides on honeybee (*Apis mellifera* L.) colony development, queen rearing and drone sperm production. **Ecotoxicology**, London, v. 14, n. 7, p. 757-769, 2005.

VENZON, M.; LEMOS, F.; SARMENTO, R. A.; ROSADO, M. C.; PALLINI, A. Predação por coccinélídeos e crisopídeo influenciada pela teia de *Tetranychus evansi*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 44, n. 9, p. 1086-1091, 2009.

VENZON, M.; OLIVEIRA, R. M.; BONOMO, I. S.; PEREZ, A. L.; RODRIGUEZ CRUZ, F. A.; OLIVEIRA, J. M.; PALLINI, A. Manejo de ácaros-praga em sistemas orgânicos de produção. In: VENZON, M.; PAULA JUNIOR, T. J.; PALLINI, A. (Org.). **Controle alternativo de pragas e doenças na agricultura orgânica**. Viçosa: EPAMIG, UREZM, 2010. p. 197-211.

VENZON, M.; OLIVEIRA, H. G.; SOTO, A.; OLIVEIRA, R. M.; FREITAS, R. C. P.; LOPES, I. P. C. Potencial de produtos alternativos para o controle de pragas In: ISHIDA, A. K. N.; POLTRONIERI, L. S. (Org.). **Métodos alternativos de controle de insetos-praga, doenças e plantas daninhas**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2008a. p. 263-287.

VENZON, M.; ROSADO, M. C.; FADINI, M. A. M.; CIOCIOLA JUNIOR., A. I.; PALLINI, A. The potential of a neem seed extract (NeemAzal T/S) for the control of coffee leaf pests. **Crop Protection**, London, v. 24, n. 3, p. 213-219, 2005.

VENZON, M.; ROSADO, M. C.; MOLINA-RUGAMA, A. J.; DUARTE, V. S.; DIAS, R.; PALLINI, A. Acaricidal efficacy of neem against *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) (Acari: Tarsonemidae). **Crop Protection**, London, v. 27, n. 3-5, p. 869-872, 2008b.

VENZON, M.; ROSADO, M. C.; PALLINI, A.; FIALHO, A.; PEREIRA, C. J. Toxicidade letal e subletal do nim sobre o pulgão-verde e seu predador *Eriopsis connexa*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 42, n. 5, p. 627-631, 2007.

WILCOCK, C.; NEILAND, R. Pollination failure in plants: why it happens and when it matters. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 7, n. 6, p. 270-277, 2002.

XAVIER, V. M.; MESSAGE, D.; PIKANÇO, M. C.; BACCI, L.; SILVA, G. A.; BENEVENUTE, J. S. Impact of botanical insecticides on indigenous stingless bees (Hymenoptera: apidae). **Sociobiology**, Chico, v. 56, n. 3, p. 713-725, 2010.

XUAN, T. D.; TSUZUKI, E.; HIROYUKI, T.; MITSUHIRO, M.; KHANH, T. D.; CHUNG, I. M. Evaluation on phytotoxicity of neem (*Azadirachta indica*. A. Juss) to crops and weeds. **Crop Protection**, London, v. 23, n. 4, p. 335-345, 2004.

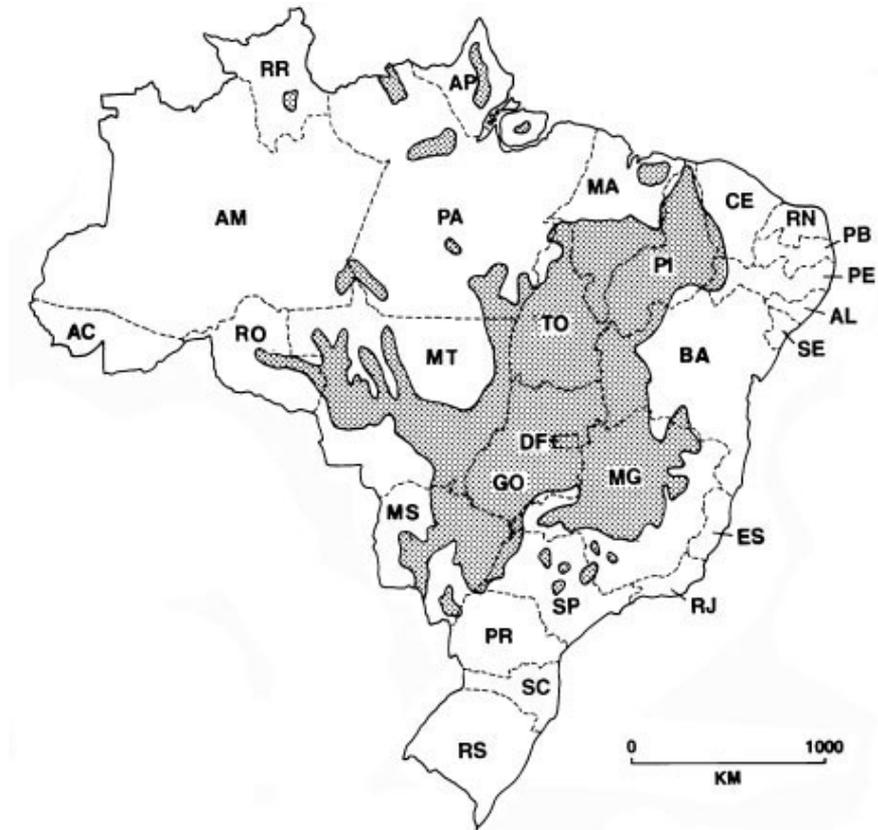
## **Busca por Inseticidas Botânicos no Cerrado: um Argumento para a Conservação do Bioma e a Importância da Faveira (*Dimorphandra mollis* Benth., Fabaceae) neste Contexto**

Alexandre I. de A. Pereira, Wagner de S. Tavares, Silvia de S. Freitas, Jair Mafezoli, Flávio G. de Jesus, José E. Serrão e José C. Zanuncio

---

### **O bioma Cerrado e sua fragilidade**

O Cerrado está localizado no Planalto Central do Brasil e possui o equivalente a 1,8 milhões de km<sup>2</sup> (21% do território brasileiro), com extensão de mais de 20 graus de latitude e ocupando áreas pelos estados de Goiás, Tocantins e Distrito Federal (áreas contínuas) e manchas de pequenas extensões na Mata Atlântica, Floresta Amazônica e Caatinga (CERRADO..., 2002) com presença em 13 estados brasileiros (SANO et al., 2008a) (Figura 1). Caracteriza-se como o segundo maior bioma brasileiro, atrás apenas da Floresta Amazônica (3,5 milhões de km<sup>2</sup> de extensão territorial).



**Figura 1.** Distribuição do bioma Cerrado no Brasil (Adaptado de Ratter et al. 1997).

Devido a sua posição central, o Cerrado possui relações ecológicas com quase todos os biomas brasileiros - exceto campos sulinos - o que sugere grande importância como corredor de vegetação entre diferentes domínios vegetacionais e influenciador quanto ao aumento da diversidade de espécies endêmicas ou compartilhadas com outros biomas (BUSCHBACHER, 2000). Fora do Brasil, ocupa áreas na Bolívia e Paraguai, enquanto que paisagens semelhantes são encontradas na Guiana, Suriname, Colômbia e Venezuela, onde recebe o nome de Llanos.

Apesar dos variados gradientes altitudinais apresentados (desde o nível do mar a aproximadamente 1385 metros), regiões de Cerrado possuem como padrão invernos secos e verões chuvosos, com considerável diversificação climática, mas com predomínio do tipo Aw de Köppen (Tropical Chuvoso) (NIMER, 1989). Nos meses de maio, junho e julho as temperaturas mínimas podem chegar a valores próximos de 10°C, as máximas até 40°C e as médias permeando 25°C. A precipitação média anual é de 1500 mm, variando de 750 a 2000 mm (ADÂMOLI et al., 1987) com predominância de curtos períodos de seca, denominados de veranicos, podendo ocorrer na primavera e no verão. Entre maio a setembro os índices pluviométricos podem chegar a zero, caracterizando-se como a época mais seca do ano.

Esse bioma, além de possuir uma dinâmica climática peculiar, tem papel essencial no armazenamento de recursos hídricos. Em seus limites, abriga três das maiores bacias hidrográficas da América do Sul e oito das grandes bacias hidrográficas brasileiras, merecendo destaque para a geração de vazão para a bacia do rio São Francisco e ainda possui diversas nascentes de rios, situando-o em uma posição importante do ponto de vista da recarga hídrica (LIMA; SILVA, 2008). Parte da extensão do Aquífero Guarani, um imenso reservatório de água subterrânea, está contida em áreas de Cerrado. Ainda possui 17 diferentes classes de solo de acordo com a Classificação Brasileira de Solos (SISTEMA..., 1999).

A ampla extensão territorial, aliada às suas características edafo-climáticas únicas, tornou o Cerrado um ambiente extremamente diverso. É considerado como uma das 34 regiões de maior biodiversidade do planeta, junto com a Mata Atlântica, sendo caracterizado como *hotspot* devido ao alto endemismo, riqueza biológica e alta pressão antrópica decorrente de sua localização próxima aos grandes centros industriais e pela elevada taxa de expansão da fronteira agrícola do Centro-Oeste brasileiro (REZENDE, 1998).

A riqueza presente no Cerrado extrapola os limites impostos pela sua flora, fauna, solos e recursos hídricos. A diversidade sócio-cultural dos povos acolhidos há milênios por esse bioma é também uma das suas características mais marcantes. Povos indígenas e várias comunidades tradicionais encontraram nele os meios para sua existência como quilombolas, geraizeiros, vazanteiros, ribeirinhos, dentre outros. Além de ser muito rico em caça, esse bioma oferece variadas espécies de frutos que podem complementar a alimentação no começo das chuvas, além de seus rios proporcionarem abundante variedade de peixes. Um fator importante quanto à presença dessas comunidades é que, a partir da convivência e experimentação, detêm amplo conhecimento sobre os usos da biodiversidade e sobre o manejo dos recursos naturais locais.

Todavia, esse bioma tem sido pouco valorizado em termos de conservação e, como consequência, vem perdendo irreversivelmente espaço para atividades agrícolas, pecuária, industrial, mineradora, extrativismo de carvão vegetal e crescimento urbano (DIAS, 2008). A área ocupada pelo Cerrado em 1966 já representava aproximadamente 59% a menos da área original do bioma (JESUS; SANO, 2004) e com o incremento da ação antrópica dos dias atuais sua área de cobertura remanescente foi reduzida para alarmantes 28,74%. Da área ocupada por pastagens naturais (949 mil hectares) ao redor de 62% é considerada viável para a prática de atividades agrícolas (RIBEIRO; BARROS, 2002). As terras extremamente aptas à atividade agropecuária e com relativa abundância hídrica são talvez dois dos principais motivos que vem induzindo a devastação até os dias atuais.

Estima-se que 55% da área total do Cerrado encontra-se totalmente desmatada ou transformada devido à ação antrópica (MACHADO et al., 2004), com cerca de 25% dessas áreas desmatadas sem nenhuma utilização econômica e 80% das pastagens apresentando algum nível de degradação antrópica (SANTOS; CÂMARA, 2002).

Em apenas quatro décadas, mais da metade da paisagem natural foi modificada (KLINK; MACHADO, 2005; SANO et al., 2001), e estimativas indicam que a taxa de expansão da atividade agropecuária sobre as áreas nativas de Cerrado é de 3% ao ano (HENRIQUES, 2003). Previsões apontam que por volta de 2030, se as taxas atuais de desmatamento forem mantidas, a ocorrência desse bioma estará restrita às áreas protegidas (MACHADO et al., 2004).

Por volta de cinco décadas atrás, a economia da região central do país era baseada na bovinocultura extensiva e agricultura de subsistência. Porém, com a mudança da capital brasileira do Rio de Janeiro para o Distrito Federal, políticas e programas de desenvolvimento foram estabelecidos com o objetivo de viabilizar a incorporação de tal região no processo produtivo intensivo. Certamente, os resultados não satisfatórios das políticas de ocupação da Amazônia, aliado ao desejo de gerar densidade econômica às extensas áreas interioranas brasileiras levaram à criação de diversos programas federais de desenvolvimento.

Um deles foi o Polocentro (Programa para o Desenvolvimento dos Cerrados) que beneficiou principalmente médios e grandes produtores agrícolas no período em que vigorou (1975-1982) (MAROUELLI, 2003). Dos beneficiários, 81% manejavam áreas superiores a 200 hectares, absorvendo aproximadamente 88% dos 577 milhões de dólares oferecidos pelo governo na época. Tal programa não apenas foi um dos primeiros a incentivar atividades agropecuárias em áreas de Cerrado como também ajudou a fundamentar as bases do modelo agrícola que se observa atualmente. Hoje a região do Cerrado responde por cerca de um terço da produção de grãos do país (como soja, milho, trigo, arroz, sorgo, café, etc.), metade da produção de carnes e a maioria da produção de algodão do Brasil (BRASIL, 2011). Todo esse avanço no agronegócio regional e nacional, tendo esse bioma como testemunha, deveu-se dentre outros fatores a investimentos governamentais na capacitação de

técnicos, pesquisa e geração de tecnologias para aproveitamento e uso de suas potencialidades.

Um reflexo ou efeito indireto da atividade de exploração desordenada dos recursos naturais é a assustadora formação de áreas fragmentadas. Essa devastação contínua do habitat reduz a variabilidade genética de inúmeras populações, devido ao isolamento dos indivíduos, com posterior perda de biodiversidade. A dificuldade na utilização e conservação dos recursos genéticos é maior à medida que ocorre tal fragmentação. Porém, ao contrário do que existe atualmente, o aumento da conectividade entre populações isoladas de vegetais e animais, através de corredores ecológicos, contribui para o fluxo gênico e a recolonização de populações que se encontram extintas em um determinado fragmento, garantindo assim a manutenção da biodiversidade nas ilhas terrestres (escala local) e, conseqüentemente, em escala regional (COSTA; SCARIOT, 2003). As matas de galeria, por exemplo, que representam cerca de 5% da área do Cerrado, possuem importância ecológica, pois protegem os cursos d'água e, dessa forma, favorecem rotas migratórias e garantem o fluxo gênico, sendo responsáveis pela manutenção e incremento na riqueza da fauna e flora devido ao alto grau de compartilhamento de espécies com os biomas adjacentes.

O avanço exponencial do agronegócio brasileiro modelado por atividades latifundiárias, crescimento da população brasileira com urgente demanda por emprego, alimentos, água, fibras, óleos essenciais, fármacos, energia, entre outros, e modificação do regime de fogo regional são um dos grandes entraves para a conservação do bioma Cerrado atualmente (BUSCHBACHER, 2000).

As queimadas, apesar de historicamente estarem relacionadas à diversidade das formações vegetacionais no Cerrado, quando não manejadas corretamente, podem promover a perda de nutrientes, compactação e erosão dos solos e alterações no clima e hidrologia

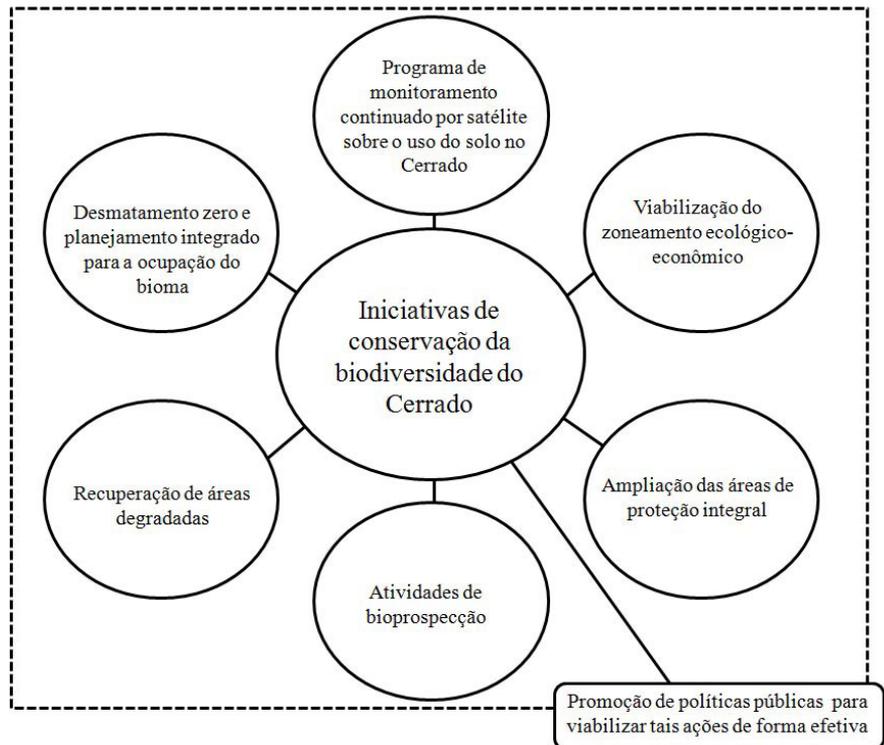
(KLINK; MACHADO, 2005). Somente até meados de 2011 as queimadas foram responsáveis pela destruição de alarmantes 322,8 mil hectares, contra 1,678 milhão de hectares em 2010. Em setembro de 2011, um dos meses mais secos do ano nesse bioma, 60% da área de 2.200 hectares do Parque Estadual Serra de Caldas Novas, em Caldas Novas (GO) foi consumida pelo fogo.

Esse breve panorama suporta argumentos a favor do aspecto de alta fragilidade desse bioma que também ainda encontra-se pouco protegido. Segundo Bocchiglieri (2009), até o ano de 2000, aproximadamente 0,85% da área do Cerrado encontrava-se protegida na forma de Unidades de Conservação (UC's) sendo que atualmente a área protegida aumentou para 2,51%, caracterizando a baixa representatividade ecológica destas unidades no bioma (ARRUDA, 2004). Além disso, cerca de 20% das espécies endêmicas e ameaçadas do Cerrado encontram-se fora das UC's existentes (MACHADO et al., 2004).

O avanço da fronteira agrícola e a diversificação e expansão da ação antrópica exploratória têm promovido a diminuição gradativa da biodiversidade no bioma Cerrado. As altas taxas de fragmentação vêm contribuindo com a redução e exclusão do habitat de diversas espécies da flora e fauna. Dessa forma, um dos grandes desafios para a conservação desse bioma com reconhecido grau de deturpação é incentivar a sua integridade e das populações locais que dele dependem, concomitantemente à aquisição de ações que busquem adequar dinâmicas econômicas em união com critérios de sustentabilidade social e ambiental. Essas ações não podem ser atribuídas como de responsabilidade exclusiva do governo, devendo ser incentivadas pelas universidades, organizações não governamentais e o setor privado.

Uma das inúmeras iniciativas potencialmente capazes de atingir esse objetivo relaciona-se com atividades de bioprospecção (Figu-

ra 2) que fortalecem o desenvolvimento socioeconômico das áreas detentoras de reconhecido grau de biodiversidade, além de incentivar o uso dos recursos naturais de forma sustentável e com valor agregado (BOCCHIGLIERI, 2009).



**Figura 2.** Principais atividades ligadas à conservação da biodiversidade do bioma Cerrado. Fonte: Bocchiglieri (2009).

## Bioprospecção e o seu contexto socioeconômico e ambiental

Uma grande variedade de recursos naturais de caráter biótico, entre eles os microrganismos, as plantas e os animais, e seus genes têm disponibilizado serviços, matérias-primas ou inspirações para novos produtos ou recursos básicos e gerando desenvolvimento

em diversos setores da economia como comércio e indústria ou da ciência como a biotecnologia (Tabela 1). O valor econômico desses bens e serviços disponibilizados pela biodiversidade global corresponde a valores monetários muito altos (Tabela 2), girando em torno de US\$ 2,9 trilhões segundo estimativas do Ministério do Meio Ambiente indiano (ÍNDIA, 2002).

A temática de explorar matérias-primas provenientes da natureza e beneficiá-las com a finalidade de aumentar o valor de determinado bem ou serviço não é nova. Essa é uma das doutrinas mercantilistas registradas desde os tempos do Brasil colônia e aplicadas até os dias atuais. Entretanto, a ideia de incorporar maiores valores a determinados bens e serviços que valorizem a responsabilidade do uso adequado dos recursos naturais, consciência da preservação da biodiversidade e valorização do caráter social tem crescido.

**Tabela 1.** Organismos vivos que representaram o foco de pesquisas com grandes investimentos, resultando em produtos comerciais ou processos industriais nos últimos 100 anos.

<b>Categoria</b>	<b>Nome comum</b>	<b>Ecosistema de origem</b>
<b>Produtos</b>		
Antibióticos	Formigas, moluscos, plantas, bactérias	Terrestre (florestas tropicais e temperadas) e marinho
Anticongelantes e crioprotetores	Peixes e ursos	Polar, marinho ou montanhas
Enzimas com ativação no frio	Fungos	Antártica
Superfícies auto-limpantes e tintas	Várias plantas	Terrestre (incluindo pântanos)
Estruturas de design arquitetônico	Cupins	Montanhas de ambientes áridos e tropicais
Dispositivos para detecção de fogo	Besouros de fogo	Florestas temperadas

Continua...

<b>Categoria</b>	<b>Nome comum</b>	<b>Ecosistema de origem</b>
<b>Produtos</b>		
Repelentes de pragas	Vários insetos	Terrestre (incluindo florestas temperadas e pradarias)
Fibras de alta tensão	Aranhas e mariposas	Terrestre (muitos ecossistemas)
Drogas cirúrgicas	Escorpiões e vespas	Terrestre
Drogas clínicas	Sanguessugas e fungos	Terrestre e aquático
Fibras óticas	Poríferos (filo Porifera)	Marinho
Enzimas industriais (têxteis, polpa e papel)	Bactérias primitivas e fungos	Terrestre, aquático, marinho e ambientes extremos (aqueles que exibem condições extremas para sobrevivência da maioria das formas de vida)
Materiais de engenharia (cerâmicas ou cristais industriais)	Caracóis	Marinho
Organismos modelos para ciência e medicina	Microrganismos presentes no lodo e lombrigas	Terrestre e marinho
Adesivos industriais	Crustáceos marinhos (cracas), vermes e lagartixas	Oceanos e florestas
Tintas anti-incrustantes	Musgos e algas marinhas	Ambientes marinhos costeiros
Robótica e design aeronáutico	Peixes, milípedes, abelhas, libélulas e minhocas	Todos os ecossistemas
Pigmentos industriais	Algas unicelulares	Marinho
<b>Processos Industriais</b>		
Nanotecnologia	Bactérias, algas e vírus	Vários (terrestres e marinhos)
Mineração biológica	Bactérias	Terrestres e aquáticos
Controle biológico, proteção das culturas (novas tecnologias)	Muitos grupos diferentes	Vários

Continua...

<b>Categoria</b>	<b>Nome comum</b>	<b>Ecosistema de origem</b>
<b>Produtos</b>		
Biomonitoramento (novas tecnologias)	Muitos grupos diferentes	Vários (terrestres, aquáticos e marinhos)
Agricultura, horticultura (novas tecnologias)	A maioria das plantas	Vários (terrestres)
Biomiméticos	Muitos grupos diferentes	Vários (terrestres e marinhos)
Ecoturismo	Todos os grupos	Uma grande variedade de destinos turísticos
Biorremediação	Principalmente micróbios	Vários
Recuperação ecológica	Invertebrados e microrganismos	Vários
Produtos farmacológicos	Muitos grupos diferentes	Vários
Medicamentos botânicos	A maioria das plantas superiores	Vários
Cosméticos e produtos de cuidado pessoal	Muitos grupos diferentes	Vários

Adaptado de Margulis e Schwartz (1998) citado por Beattie et al. (2005).

**Tabela 2.** Situação e tendências das principais áreas da ciência e tecnologia ligadas a atividades de bioprospecção.

Áreas	Situação quanto ao envolvimento nas atividades ligadas à bioprospecção	Perspectiva	Benefícios sociais	Benefícios comerciais	Recursos nos quais as atividades de bioprospecção estão relacionadas
Farmacêutica	Tendência a ser cíclico	Cíclico, mas com possível aumento	Saúde humana e geração de emprego	+++	P, A, M
Medicamentos botânicos	Alta	Aumento	Saúde humana e geração de emprego	+++	principalmente P
Cosméticos e produtos de cuidado pessoal	Alta	Aumento	Saúde humana e bem-estar	+++	P, A, M
Biorremediação	Variável	Aumento	Preservação ambiental	++	principalmente M
Proteção de culturas e controle biológico	Alta	Aumento	Fornecimento de alimentos e preservação ambiental	+++	P, A, M
Biomiméticos	Variável	Variável, mas com possível aumento	Vários (por exemplo, na medicina)	++	P, A, M
Biomonitoramento	Variável	Aumento	preservação ambiental	+	P, A, M
Horticultura e a indústria de sementes	Baixa	Estável	Bem-estar humano e saúde ambiental	+++	P
Recuperação ecológica	Média	Aumento	Preservação ambiental	++	P, A, M

Legenda: +++ = bilhões de dólares, ++ = milhões de dólares, + = rentável, mas com valores oscilantes. P (plantas), A (animais) e M (microorganismos). Adaptado de Beattie et al. (2005).

Nesse contexto, a manutenção da biodiversidade é a unidade básica para o aumento das possibilidades referentes a atividades atuais de exploração da natureza e uma ferramenta para sua continuidade no futuro. Mas como utilizar tais recursos de forma sustentável? Quais os direitos das populações indígenas e comunidades tradicionais sobre os recursos genéticos existentes em seus territórios, como sobre o conhecimento que detêm? Ou como deve ser realizada a distribuição dos benefícios (principalmente financeiros, porém não únicos) provenientes da exploração destes recursos? A necessidade urgente de conhecimento sobre as potencialidades dos recursos naturais em união às atividades de exploração da biodiversidade galgadas na conservação ambiental, obediência ao caráter social e ao desenvolvimento econômico sustentável modelam o conceito de bioprospecção. Esse termo vem sendo referenciado quando se trata de conservação ambiental e valoração social, envolvendo uma miscelânea de tópicos como biotecnologia, recursos genéticos, comunidades tradicionais, patentes e biopirataria (AZEVEDO, 2003).

Atividades pertinentes à bioprospecção, na verdade, ultrapassam o caráter exploratório e permeiam nuances jurídicas, políticas e diplomáticas. A necessidade de se equilibrar as relações entre os países tropicais ricos em biodiversidade (mas com limitada capacidade tecnológica para explorar a vasta riqueza que possuem), comunidades nativas que detêm o conhecimento do uso desses produtos e empresas internacionais, principalmente, do hemisfério norte (detentoras de tecnologia e, portanto, principais usuários desses recursos genéticos brutos) é um dos mais específicos entraves desse tema e que gera, indubitavelmente, conflitos frequentes. Para Orlove e Brush (1996) a principal barganha envolvendo atividades de exploração sustentável de recursos naturais é balancear os ganhos de todas as partes envolvidas no uso da biodiversidade,

reconhecendo seus valores econômicos, socioculturais e ambientais e os custos de se preservar essa riqueza.

As leis que regem atividades de bioprospecção visam estabelecer regras para a exploração da biodiversidade de forma sustentável e que promova partilha equânime dos resultados auferidos entre explorador e a comunidade onde se explora. A realização da Convenção da Diversidade Biológica (CDB) (<http://www.biodiv.org>), na cúpula da Terra, em 1992, no Rio de Janeiro, foi um marco que chamou atenção para o valor econômico dos recursos genéticos, dos saberes práticos de comunidades tradicionais e povos indígenas e do interesse em estabelecer regras para o acesso a todo esse conhecimento. Antes disso, as empresas não tinham obrigações legais a serem cumpridas quanto ao acesso e uso do saber tradicional e recursos genéticos *in situ*.

Segundo Reid et al. (1993), atividades de bioprospecção não atingem seu objetivo caso falhem em promover o desenvolvimento sustentável em detrimento das atividades de exploração da diversidade biológica com potencial genético, bioquímico ou comercial. Como exemplo, tem-se o caso da exploração de palmeiras que produzem óleos utilizados na indústria de cosméticos por empresas estrangeiras como a britânica *Body Shop International*. Nesse caso, a empresa somente adquire um produto extrativo se a remuneração retorna de maneira justa às comunidades extrativistas e se essa atividade permitir a renovação do recurso natural (FELFILI et al., 2004).

Converter a cultura dos povos indígenas e das comunidades tradicionais como produto comercial, ou seja, tratar o conhecimento como propriedade seria talvez a melhor e única maneira desses povos definirem, representarem, manterem e usufruírem de sua herança (BROWN, 2004). O problema desse ponto de vista remete a questões imbricadas em termos sociais, morais e culturais que

precisam ser mais bem definidas e formalizadas, uma vez que o caráter de sua posse e do uso do saber tradicional é essencialmente coletivo, mesmo havendo casos em que haja detentores especializados e práticas que remetem à existência de titularidade individual (REZENDE, 2008). Neste caso a mercantilização excessiva poderia gerar um efeito anticultural nas comunidades tradicionais.

Cerca de 100 países criaram ou estão desenvolvendo leis ou outras medidas políticas para complementar tais iniciativas internacionais obedecendo, logicamente, aos moldes e parâmetros das suas respectivas realidades. Muito embora a CDB tenha estabelecido a soberania dos países sobre seus recursos biológicos e genéticos, propiciando bases para uma negociação mais justa entre países provedores de biodiversidade e detentores de tecnologias, as jurisdições criadas pelos países com reconhecida biodiversidade ainda são capazes de burocratizar demasiadamente e, com isso, engessar potenciais processos de bioprospecção.

Dessa forma, a União Internacional para a Conservação da Natureza e a União da Conservação Mundial publicaram um guia para padronizar as permissões de coleta e exportação de materiais (GLOWKA, 1998). O Programa de Desenvolvimento das Nações Unidas, recentemente, contribuiu para a elaboração de um guia (PRESCOTT et al., 2000) que inclui casos de estudo provenientes de atividades de bioprospecção oriundos da República Democrática do Congo, Oman, Nigéria e da província de Quebec (MORAN et al., 2001). A Diretoria do Patrimônio Genético (DPG), vinculada ao Ministério do Meio Ambiente (MMA) brasileiro, possui como órgão máximo para deliberar e criar normas para gestão de recursos genéticos e saber tradicional, o Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN). Esse conselho foi criado a partir da edição da Medida Provisória nº 2.186-16, de 23 de agosto de 2001, substituída pela Lei nº 13.123, de 20 de maio de 2015 (a referida Lei entrou em vigor em 17 de novembro de 2015, oportunidade em que foi

revogada a Medida Provisória nº 2.186-16, de 2001) e tem como intuito implementar os compromissos assumidos pelo Estado brasileiro a partir da assinatura e ratificação da CDB.

Ainda no caso do Brasil, de acordo com a medida provisória acima citada, o termo bioprospecção é definido como uma “atividade exploratória que visa identificar componente do patrimônio genético e informação sobre conhecimento tradicional associado, com potencial uso comercial” (art.7º, inc.VII). Essa mesma medida também define o conhecimento tradicional associado como “informação ou prática individual ou coletiva de comunidade indígena ou de comunidade local, com valor real ou potencial, associada ao patrimônio genético” (art.7º, inc. II). Assim, as atividades de bioprospecção, independentemente de suas diferentes finalidades - como pesquisa científica, desenvolvimento tecnológico visando sua aplicação industrial/comercial ou de outra natureza - giram em torno da obtenção de conhecimentos pertencentes a comunidades tradicionais e ao acesso ao patrimônio genético por elas utilizado.

A obrigatoriedade em se constatar a origem desses conhecimentos tradicionais é legítima e tem o caráter de rastrear se é respeitada a devida socialização dos benefícios a quem tem o direito. Essa contrapartida oriunda dos exploradores às comunidades indígenas ou tradicionais pelo conhecimento milenar do uso da flora, por exemplo, tem importância metodológica extrema (KING; CARLSON, 1995). Se as empresas interessadas na descoberta de fitoquímicos investigassem aleatoriamente os princípios ativos potenciais das mais de 10.000 espécies de plantas presentes no Cerrado, tal tarefa talvez nunca tivesse um fim. Todavia, quando os esforços investigativos são concentrados naquelas espécies nas quais as populações indígenas vivenciam e utilizam, ao longo de inúmeras gerações, há a real possibilidade de se obter um atalho no processo de descoberta de compostos químicos não descritos. Um exemplo dessa facilidade metodológica para exploração vivenciada

pela abordagem do conhecimento tradicional associado é que dos 120 compostos ativos isolados de plantas superiores e utilizados na medicina ocidental, 74% possuem os mesmos fins terapêuticos constatados pelas sociedades nativas (FARNSWORTH et al., 1985).

As empresas de produtos farmacêuticos que não valorizam o poder do conhecimento tradicional associado efetuam impreterivelmente atividades de buscas de novos compostos químicos de forma altamente arriscada (demandando grandes investimentos) e por longos anos. Segundo Azevedo (2003), de cada 100 amostras de material coletado, de maneira geral, apenas uma demonstra utilidade, requerendo investimentos de cerca de 20 a 300 milhões de dólares e muito tempo (média de 10 a 15 anos) para sua elaboração como produto comercial. Por outro lado, quando há a descoberta de algum processo ou produto comercializável ou aproveitável industrialmente, o retorno financeiro em *royalties*, dentre outros direitos, pode atingir cifras de bilhões, como apresentado na Tabela 2.

De acordo com Elisabetsky (1991), esse tipo de produto é tido como exclusivamente oriundo do conhecimento tradicional, mesmo que, teoricamente, encontrado na natureza. Em contrapartida, estima-se que ao redor de 0,0001% dos lucros do setor farmacêutico, por exemplo, tenha retornado aos usuários de plantas medicinais que assistiram ou nortearam a indústria farmacêutica nas suas descobertas (RUBIN; FISH, 1994).

Muito se especula sobre o retorno financeiro às comunidades tradicionais, porém, segundo Azevedo (2003), os benefícios a serem repartidos podem não ser necessariamente monetários e a adoção de medidas que atendam às necessidades locais e regionais pode ser bastante útil. A transferência de tecnologias, capacitação técnica e suporte ao desenvolvimento de pesquisas integradas por instituições brasileiras seriam algumas dessas necessidades. To-

das as estratégias relacionadas com a aquisição de mais investimentos e apoio em capacitação de recursos humanos e estruturas laboratoriais de referência, em atividades relacionadas ao amparo dos profissionais que envolvem suas pesquisas com química de produtos naturais, por exemplo, poderiam até ajudar a mudar um panorama paradoxal brasileiro. Possuímos uma das floras mais ricas do mundo, estimada em 40 a 55 mil espécies vegetais (LEWINSOHN; PRADO, 2003; SHEPHERD, 2003) em comparação com outros países que possuem políticas de incentivo às atividades de bioprospecção, como a China, com 27 mil espécies vegetais, e a Índia, com 18 mil. No entanto, somos grandes exportadores de plantas e matérias-primas vegetais e importadores dos produtos e serviços delas provenientes.

A rastreabilidade dos recursos genéticos explorados de forma consciente torna-se uma importante estratégia contra atividades de biopirataria, que não considera a repartição justa e equitativa dos benefícios advindos da exploração comercial entre as instituições e os titulares do conhecimento tradicional. Um conjunto de problemas relativos ao extrativismo oriundo da biopirataria, segundo Kimbrell (1997), são que essas atividades (1) não consideram a relevância de um modelo sustentável de exploração baseada no desenvolvimento econômico-cultural dos países tropicais, síntese e transferência de tecnologias, potenciais descobertas de novos princípios ativos úteis ao ser humano e ao meio ambiente, e (2) propiciam o abandono de pesquisas que podem nunca terem sido completadas devido à elevada taxa de extinção de determinadas espécies, baseando-se nas leis comerciais de procura e oferta.

Vários setores possuem potencialidades quanto à demanda por atividades de bioprospecção e talvez o mais comum deles esteja relacionado à elaboração de produtos e processos farmacêuticos e/ou a fitoterapia. Inclusive, algumas empresas desse ramo possuem até seus próprios departamentos de bioprospecção. Segun-

do a Organização Mundial da Saúde (OMS) os remédios extraídos de plantas são utilizados por cerca de 80% da população mundial, em especial nas áreas em desenvolvimento ou em locais onde a população não tem acesso ou condições de adquirir medicamentos (TADEG et al., 2005). Entre 1994 e 1997, quase 4,5 mil toneladas de plantas medicinais do território brasileiro foram exportadas para a Alemanha, Austrália, Estados Unidos, Japão, Coreia, entre outros, rendendo ao País cerca de 22,5 milhões dólares nesses três anos (FELFILI et al., 2004). A maior provedora de plantas medicinais no Brasil é a Floresta Amazônica seguida da Mata Atlântica e do Cerrado.

Todavia, nesse último bioma, as plantas potencialmente econômicas não são apenas medicinais e possuem diversas outras finalidades como alimentícias, ornamentais, forrageiras, apícolas, produtoras de madeira, cortiça, fibras, óleo, tanino, material para artesanato e outros bens e serviços (como as plantas com efetivos componentes inseticidas), o que sugere grande potencial do Cerrado como alicerce para atividades de bioprospecção de vegetais, ampliando perspectivas para a extração sustentável e com possibilidade de gerar retorno às comunidades nele inseridas (ALMEIDA et al., 1998; PEREIRA, 1992).

O que se observa na prática é que boa parte desses valorosos recursos vegetais ainda são disponibilizados ao mercado sem um mínimo de esforço de produção racional e sem a conservação de seus genes, por falta de plantios de manutenção e conservação ou coleções de germoplasmas (CLAY; SAMPAIO, 2000; FELFILI et al., 2004). No caso do Cerrado, o grande fator limitante para o uso econômico de diversas espécies está na falta de conhecimento técnico sobre a domesticação da maioria dos seus representantes. Como consequência, o recurso vegetal é totalmente exaurido do seu habitat sem que haja espaço para o restabelecimento das plantas nativas (HOMMA, 1993).

Outro ponto de discussão sobre a bioprospecção gira em torno da quantidade de material retirado da natureza e de como ocorre o acesso a esse material. No passado, a necessidade de se coletar um número de indivíduos (de origem animal ou vegetal) compatíveis e representativos da população selvagem era pungente. Isso ocorria, principalmente, devido à necessidade de se obter uma variabilidade genética que permitisse tanto a reprodução bem sucedida quanto futuros melhoramentos de características de interesse dessas populações. Porém, face à necessidade de conhecimento aprofundado da biologia reprodutiva das espécies estudadas e de suas características de adaptabilidade, implicações problemáticas eram corriqueiramente observadas (MUSGRAVE et al., 2000). Um exemplo ilustrativo foi o caso da transferência da seringueira (*Hevea brasiliensis* L.) do seu habitat natural citado por Dean (2002).

Uma série de avanços tecnológicos recentes modificou essa dinâmica, na maioria das vezes ineficaz, de transferência de material genético e, por consequência, do saber tradicional. Um desses avanços deveu-se à biotecnologia que permitiu aos cientistas transportar, armazenar, reproduzir e retrabalhar o material genético, de um modo quase que independente dos próprios organismos, através do uso da síntese e recombinação pela engenharia genética. Assim, essas novas representações dos organismos vivos impactaram o modo como se faz a coleta de material biológico e seu emprego na bioprospecção.

Os grandes grupos multifuncionais farmacêuticos, atualmente, têm discutido a aplicação das tecnologias baseadas na genômica, onde o enfoque passa a ser macromolecular (peptídeos, proteínas, e demais) ao invés de micromolecular (substâncias naturais ou sintéticas). Uma prova disso é que pequenas amostras consideradas não representativas de uma população, como exsiccatas ou plantas secas armazenadas nos jardins botânicos para fins de classificação e caráter pedagógico, tornaram-se agora potenciais fontes de

DNA para novas descobertas. Esse fato pode ser constatado pela desativação de alguns centros de bioprospecção *in situ* como o da Abbott Pharmaceutical e da Pfizer (KHOSLA, 1998 citado por PINTO et al., 2002).

Essa abordagem tecnológica que gera, sem dúvidas, facilidades metodológicas, como o armazenamento e reprodução *in vitro* de organismos (virtualmente eternos) é suscetível a críticas por algumas posições que alegam que tais facilidades prejudicam ou desvalorizam programas de conservação *in situ* de espécies envolvidas na bioprospecção e dos saberes tradicionais associados (REZENDE, 2008). Parry (2004) relatou que enquanto algumas empresas continuam a buscar novos compostos a partir da coleta *in situ*, muitas outras estariam dando preferência a técnicas que buscam criar esses recursos a partir da química combinatória ou da busca em amostras de material *ex situ*, uma vez que seriam mais acessíveis tanto geograficamente quanto politicamente. Essa nova modalidade de bioprospecção, alternativa àquela disponibilizada pelo conhecimento tradicional, busca operar em uma brecha da CBD, pois não condiciona o acesso aos materiais de coleções *ex situ* obtidos antes de 1992.

Essa prática, denominada *microsourcing* (que ainda não é o único direcionamento tomado hoje pela indústria biotecnológica) busca o desenvolvimento de novos produtos a partir de amostras armazenadas em bancos de germoplasma, jardins botânicos e outras coleções *ex situ* e pode gerar graves problemas éticos. Essa atividade configura-se como uma ameaça ao trabalho de pesquisadores envolvidos com sistemática vegetal e etnociências, uma vez que a distinção *a priori* entre coletas realizadas com fins de identificação e descrição, daquelas realizadas com fins comerciais, torna-se praticamente impossível (REZENDE, 2008).

## **A riqueza florística do Cerrado: um manancial a ser explorado para a bioprospecção de substâncias inseticidas**

O Cerrado tem se mostrado muito mais diverso em espécies vegetais do que se previa, com muitas das suas tipologias endêmicas da América do Sul e do Brasil (MENDONÇA et al., 1998). Diversos autores contrapuseram-se, com respaldo científico, ao que a maioria da opinião pública achava a respeito da biodiversidade desse bioma: pouco diversificada e com baixo grau de endemismo (SICK, 1966; SILVA, 1995). Segundo Machado et al. (2008), a taxa de endemismo das plantas superiores nesse bioma é de 44% e das plantas herbáceas 70%.

A publicação de diversas listas florísticas compiladas nas últimas décadas confirma a grande diversidade vegetal desse bioma. Segundo Eiten (1994), o Cerrado possui a flora mais rica em plantas vasculares do planeta, excetuando-se comparações com algumas poucas regiões de florestas tropicais. A formação savânica com maior diversidade vegetal do mundo, particularmente quando consideradas as espécies lenhosas, está presente no Cerrado. Tem uma posição destacada no que se refere à biodiversidade, por apresentar uma intensa heterogeneidade vegetal, sendo responsável por 5% de toda a biodiversidade mundial (PIRES, 1999; MORAIS et al., 2003). De acordo com Mendonça et al. (1998), a diversidade florística do Cerrado possui 6.671 taxa nativos, distribuídos em 170 famílias, sendo o primeiro bioma em diversidade de quimiotipos.

A vegetação do Cerrado engloba formações florestais (cerca de 20% da área total), savânicas (37%) e campestres (4%), variando desde campos abertos até densas florestas com dossel, contínuo ou descontínuo, medindo até 30 metros de altura, no caso das matas ciliares (Sano et al. 2008b). Ribeiro e Walter (1998) descreveram onze tipos principais de vegetação para o Cerrado, classificando-os em Formações Florestais (Mata Ciliar, Mata de Galeria, Mata

Seca e Cerradão), Savânicas (Cerrado sentido restrito, Parque de Cerrado, Palmeiral e Vereda) e Campestres (Campo Sujo, Campo Limpo e Campo Rupestre), com um total de 25 fitofisionomias quando considerados os subtipos dessa classificação.

Como perfil geral, as florestas apresentam áreas com predominância de espécies arbóreas com formação de dossel. As savanas são áreas com árvores e arbustos entremeados em um estrato gramíneo, sem formação de dossel contínuo e os campos são áreas com predominância de espécies herbáceas e algumas arbustivas, com ausência de árvores em sua paisagem (RIBEIRO; WALTER, 1998). Esse tipo de classificação é bem adequado em escala local; porém, em escala regional o Cerrado apresenta outros padrões biogeográficos como proximidade ou isolamento em relação aos domínios vizinhos (MACHADO et al., 2008).

A formação de pré-cerrado já existia desde o Cretáceo (entre 145 milhões a 65 milhões de anos atrás). Após esse período, ocorreu soerguimento do Planalto Central e uma alteração gradativa de clima, que anteriormente era mais seco, para uma condição mais úmida, favorecendo a diversificação da flora e fauna. Assim, os terrenos mais antigos, de planaltos mais elevados, são mais amplamente dominados por formações vegetais campestres, entrecortados por veredas esparsas e florestas ripárias restritas às margens de cursos d'água. Todavia, as áreas mais baixas, embora dominadas por ambientes abertos de Cerrado savânico, abrigam maiores extensões de ambientes florestais, incluindo matas decíduas e semidecíduas de interflúvio, além de florestas ripárias mais desenvolvidas (MACHADO et al., 2008).

Diversos estudos, nas diferentes formações que compõem esse bioma, demonstram uma grande riqueza de espécies com variações associadas a fatores ambientais, assim como reafirmam o caráter de mosaico das fisionomias em escalas local e regional. A

listagem da flora vascular do bioma Cerrado compilada por Mendonça et al. (1998) demonstrou a riqueza da flora e as relações florísticas entre as diferentes fisionomias do bioma, sendo que, mais recentemente, Mendonça et al. (2008) compilaram três listas com 12.356 espécies considerando fanerógamas, pteridófitas e plantas alóctones (invasoras e ruderais presentes em áreas nativas).

A distribuição heterogênea da vegetação do Cerrado permite caracterizar ao redor de 6.671 táxons nativos distribuídos em 170 famílias e 1.144 gêneros. São 6.429 espécies, além de 451 variedades e/ou subespécies. Dessas espécies, 267 são pteridófitas, duas gimnospermas e 6.060 angiospermas (Tabela 3). Mendonça et al. (1998) também apresentaram uma lista de espécies fanerogâmicas registradas para as formações florestais, savânicas e campestres incluindo 6.389 táxons nativos, pertencentes a 6.062 espécies (incluindo 425 variedades ou subespécies), 1.093 gêneros e 151 famílias. O número de gêneros de fanerógamas representa aproximadamente 26% dos 4.200 estimados para a América do Sul como um todo (GENTRY et al., 1997). O número de espécies de angiospermas (6.060) representa 65% das 9.300 estimadas por Gentry et al. (1997) para o Cerrado, Caatinga, Llanos, Chaco e Pantanal, incluindo-se também as matas ocorrentes nesses domínios.

**Tabela 3.** Número de famílias, gêneros, espécies, variedades/sub-espécies e táxons que compõem a flora nativa do bioma Cerrado (MENDONÇA et al., 1998).

Grupo	Famílias	Gêneros	Espécies	Variedades/ Subespécies	Número de Taxa
Pteridófitas	19	51	267	26	282
Gimnospermas	1	1	2	0	2
Angiospermas	150	1092	6060	425	6387
Total	170	1144	6429	451	6671

Fonte: Mendonça et al. (1998) citado por Ribeiro e Dias (2007).

As famílias florísticas mais representativas do bioma Cerrado correspondem a Fabaceae, seguida de Asteraceae, Orchidaceae, Poaceae, Rubiaceae, Melastomataceae, Myrtaceae, Euphorbiaceae, Malpighiaceae e Lythraceae (Tabela 4). Apesar dessas 10 famílias, que retratam menos de 7% do total de famílias encontradas e contribuem com aproximadamente 51% da riqueza florística do Cerrado, Asclepiadaceae e Labiatae também podem ser destacadas apresentando, respectivamente, 106 e 103 espécies (RIBEIRO; DIAS, 2007).

**Tabela 4.** Distribuição dos gêneros, espécies, variedades/sub-espécies e táxons para as famílias mais abundantes do bioma Cerrado.

Família	Gêneros	Espécies	Variedades/ Subespécies	Taxa
Fabaceae	101	777	143	859
Asteraceae	106	557	6	559
Orchidaceae	91	491	3	493
Poaceae	70	371	5	373
Rubiaceae	47	250	15	257
Melastomataceae	22	231	11	238
Myrtaceae	14	211	2	212
Euphorbiaceae	27	183	15	195
Malpighiaceae	16	126	3	128
Lythraceae	6	113	12	120
Total	500	3310	215	3434

Fonte: Mendonça et al. (1998) citado por Ribeiro e Dias (2007).

As famílias Fabaceae, Asteraceae, Orchidaceae e Poaceae são as mais ricas do bioma Cerrado. Fabaceae é tipicamente rica nos trópicos e Poaceae é característica de ambientes savânicos. A família Orchidaceae também é uma das mais ricas nos biomas Mata Atlântica e Amazônia; porém, no Cerrado, há o predomínio de orquídeas terrestres, com 51% das espécies, seguidas pelas epifíticas com 37%. A família Asteraceae é a segunda mais diversa (Tabela 4), de acordo com a compilação de Mendonça et al. (1998). A família Myrtaceae, assim como na Amazônica e Mata Atlântica, encontra-se como uma das mais ricas em espécies (GENTRY et al., 1997). Entretanto, segundo Ribeiro e Dias (2007) várias famílias ricas em espécies na floresta Amazônica, como Chrysobalanaceae, Sapotaceae, Lauraceae e Meliaceae não estão entre as mais representativas no Cerrado. Monimiaceae e Hippocrateaceae estão entre as mais ricas na Floresta Atlântica, porém são menos representadas na Floresta Amazônica e no Cerrado.

A formação Campestre apresenta 2.055 táxons enquanto que a formação Savânica apresenta 2.880 e a Florestal 2.540 (Tabela 5). Observa-se ainda a existência de inúmeros táxons comuns entre essas três fisionomias do Cerrado, como também aqueles exclusivos de cada uma. Essa informação confirma a grande riqueza florística das formações florestais do bioma, especialmente das Matas de Galeria. De fato, a contribuição das formações florestais, como as Matas de Galeria, para a riqueza florística do Cerrado é elevada, principalmente quando se considera que estas ocupam uma área bastante pequena em relação às formações campestres e savânicas.

**Tabela 5.** Número de táxons de fanerógamas por formação vegetal e por hábito (forma de vida) no bioma Cerrado.

Formação	Número de táxons	Hábito	Número de táxons
Campestre	2055	Erva	2150
Savânica	2880	Subarbusto	835
Florestal	2540	Arbusto	1291
Sem Informação	865	Árvore	1065
		Trepadeira	428
		Sem informação	620

Fonte: Mendonça et al. (1998) citado por Ribeiro e Dias (2007).

Salienta-se ainda que os valores de biodiversidade apresentados são modestos devido ao reduzido trabalho de coleta e amostragens em várias fitofisionomias e regiões desse enorme bioma que abrange praticamente 25% do país (RIBEIRO; DIAS, 2007). Segundo Felfili et al. (1992) há grande probabilidade de ocorrer novas citações para a Chapada dos Veadeiros (GO) ou para o Parque Nacional das Emas (GO-MS-MT). As áreas de Cerrado presentes nos estados do Maranhão, Tocantins, Piauí, Oeste da Bahia e Mato Grosso também podem ser celeiro de novos registros devido ao pouco esforço amostral lá realizados. Machado et al. (2008) confirmam essa previsão afirmando que as taxas de descobertas de novas espécies a cada levantamento florístico é alta. Porém, segundo esses autores, a maioria dos dados de diversidade biológica está concentrada em regiões sob intenso impacto antrópico, havendo poucas áreas protegidas bem conhecidas em termos de biodiversidade, como as duas acima citadas.

Esforços intensivos de coleta, amostragens padronizadas nas diferentes regiões do bioma e revisões taxonômicas são imprescindíveis para que se possa ser feita a avaliação global da sua composi-

ção florística que ainda aparenta estar longe da realidade. Segundo Ribeiro e Dias (2007) tais esforços são extremamente necessários uma vez que existem, ainda, extensas áreas cobertas por vegetação nativa, mas sob forte pressão do desenvolvimento agrícola e urbano. Com isso, a possibilidade de que diversas espécies vegetais estejam em risco de extinção, antes mesmo de serem conhecidas pela ciência, é fato verídico.

Quando comparamos o número de espécies vegetais de áreas de Cerrado com outros biomas, como a Floresta Amazônica, por exemplo, nos deparamos com maior número de espécies vegetais (diversidade específica) nesse último bioma (GOTTLIEB; BORIN, 1994). Porém, a diversidade taxonômica é certamente maior no primeiro (GUARIM NETO; MORAIS, 2001) e quanto maior a presença de táxons mais elevados (gênero, família e ordem) maior o distanciamento filogenético entre as espécies e, com isso, maior a diferença e variabilidade química entre elas (KAPLAN et al., 1994). Dessa forma, a probabilidade de se encontrar mais substâncias orgânicas naturais oriundas do metabolismo secundário das plantas (terpenoides, alcaloides, flavonoides, xantonoides, antraquinoides, lignoides, neolignoides, cumarinoides, carotenoides e policetídeos) e que possuem importância como constituintes de defesa química das plantas é maior no bioma Cerrado.

### **Inseticidas naturais de origem botânica mais conhecidos no Brasil e no mundo**

A intensificação da agricultura através de técnicas modernas de irrigação, introdução de variedades de plantas altamente produtivas e a aplicação intensiva de agroquímicos orgânicos sintéticos integram um pacote tecnológico de produção vegetal capaz de alimentar e vestir grande parte da população humana, que pas-

sa por um período de ascendente multiplicação. Portanto, torna-se uma situação preocupante, haja vista que a estimativa para o ano de 2050 é 9.352 bilhões de habitantes no planeta (KOUL; WALIA, 2009), e o surto de pragas (insetos, doenças e plantas daninhas) nos agroecossistemas tem sido verificado ser indiferente, nos últimos cinquenta anos, a todo esse arsenal tecnológico adotado para contê-las.

Nesse cenário, uma das grandes expectativas atuais para o controle de pragas agrícolas é a manipulação de compostos químicos provenientes de plantas visando descobrir novas moléculas que possam ser utilizadas como inseticidas (causadoras de efeitos deletérios e/ou morte em insetos) com potencial para substituir os inseticidas sintéticos (organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretroides, entre outros), amplamente utilizados a partir de meados da década de 1940 do século passado, mas com efeitos negativos (ambientais, sociais e econômicos) que perduram até os dias atuais. Esses compostos químicos vegetais, que cumprem com o propósito inseticida, mas utilizados de forma natural, são referenciados na literatura especializada como inseticidas botânicos naturais (que abreviaremos ao longo do texto para IBN's).

Todos os seres vivos sintetizam substâncias alelopáticas, ou seja, que causam danos em outro organismo, devido à liberação no meio ambiente de metabólitos secundários tóxicos, mas as plantas respondem pela maior quantidade e diversidade desse tipo de substâncias. Uma das hipóteses em se verificar uma grande variedade de compostos com potencial inseticida nos vegetais relaciona-se, dentre outros fatores, com a sua própria história evolutiva. A coevolução entre plantas e artrópodes, por exemplo, remonta cerca de 400 milhões de anos atrás (GRIMALDI; ENGEL, 2005). Dessa forma, as plantas adquiriram eficientes mecanismos de defesa, por meio de moléculas químicas, sejam essas de natureza antimicrobiológica ou designadas para repelir animais de diversas formas.

Compostos dessa natureza podem ser repelentes, causadores de esterilidade, modificadores de comportamento (ou desenvolvimento) ou mesmo com propriedades tóxicas agudas ou crônicas e são adequados contra insetos herbívoros, hematófagos ou outros grupos de insetos-praga como os que atacam produtos agrícolas em ambientes de armazenamento.

Apesar das plantas possuírem tanto substâncias benéficas como prejudiciais (altamente tóxicas), o ser humano soube interpretar a importância desse arsenal químico-botânico e utilizá-lo com a finalidade de atender suas mais diversas necessidades. Dessa forma, acredita-se que o uso de plantas com propriedades inseticidas pela humanidade é uma prática relativamente antiga (ROEL et al., 2000).

A tradição no uso de produtos botânicos de ação inseticida é tão marcante em alguns povos de países em desenvolvimento que, atualmente, são eles que mais utilizam essa tecnologia. Para Isman (2006) nesses países os reais benefícios dos produtos botânicos podem ser contemplados em sua totalidade. Primeiro pelo fato de que nem todos os produtos sintéticos são acessíveis a todas as classes da sociedade, e segundo pela forte tradição no uso de plantas e seus derivados para a proteção de produtos agrícolas sob condições de campo ou armazenamento.

No Oeste da África, agricultores utilizam produtos botânicos com reconhecida ação fumigante para a proteção pós-colheita de grãos, contra broqueadores e sua progênie. Rotenoides de plantas do gênero *Tephrosia* (Fabaceae), nicotina de *Nicotiana* (Solanaceae) ou eugenol de *Ocimum* (Lamiaceae) são alguns exemplos (JAYASEKARA et al., 2005). Isso demonstra que a riqueza cultural proveniente das relações etnobotânicas vivenciadas por populações de clima tropical é uma importante ferramenta para impulsionar a utilização dos produtos botânicos naturais em substituição aos químicos sintéticos no controle de pragas.

Os primeiros registros de plantas inseticidas pela humanidade remontam à época do Império Romano. Por volta de 400 a.C., durante o Império Persa, o procedimento usual para retirada de piolhos em crianças ocorria através do uso tópico de um pó obtido de flores secas da planta piretro (*Tanacetum cinerariaefolium*, Compositae) (atual *Chrysanthemum*, Asteraceae). Porém, o uso do primeiro produto de origem botânica com caráter inseticida remonta ao século XVII, na França, quando se provou que a nicotina era eficaz contra insetos.

Após a segunda grande guerra mundial as poucas plantas com potencial inseticida e seus extratos que apresentavam determinado tipo de eficiência no controle de pragas foram substituídos por inseticidas sintéticos. Um dos motivos dessa substituição deveu-se às variações na eficiência do controle, diferenças na concentração do ingrediente ativo entre plantas e, principalmente, ao baixo efeito residual que obrigava o uso de várias aplicações em curtos períodos (COSTA et al., 2004). Essa substituição ocorreu de forma tão criteriosa que alguns críticos discursavam a respeito do desaparecimento total do uso de inseticidas botânicos para propósitos agrícolas, florestais, na saúde pública e em domicílios.

Problemas envolvendo o uso de produtos sintéticos como contaminação ambiental, resíduos tóxicos nos alimentos e o aumento alarmante dos casos de resistência de pragas puseram em dúvida a permanência e real eficiência do uso desses produtos sintéticos. Isto fez ressurgir a necessidade de se buscar produtos biodegradáveis e mais seletivos (RAGURAMAN; SINGH, 1999). Segundo Dubey et al. (2010), apesar de um pouco mais de 2500 plantas já terem sido cientificamente testadas com esse propósito, em todo o mundo, não resta dúvidas de que os compostos químicos oriundos, naturalmente, de plantas constituem-se como um importante método de controle de pragas por meios biológicos (Tabela 6).

Produtos botânicos atuam de diferentes formas nos insetos, tais como reguladores de crescimento, deterrentes alimentares (fagor-repelentes), repelentes e os que atuam por confundi-los. Inseticidas botânicos que atuam como reguladores de crescimento inibem a metamorfose dos insetos de alguma forma, ou atrasando ou antecipando esse processo. Algumas dessas moléculas podem alterar o equilíbrio dos hormônios envolvidos na mudança de fase dos insetos fazendo com que sofram malformações, adquiram esterilidade ou resultem em sua morte.

A deterrência alimentar é talvez o efeito mais estudado quando se trata de IBN's com eficiência no controle de pragas. Um composto que provoca impedimento à alimentação induz o inseto a parar de se alimentar (forma temporária) ou morrer de fome (forma permanente). Os terpenos presentes nessas plantas são os principais compostos responsáveis por esse modo de ação sendo isolados, em sua maioria, de plantas medicinais oriundas da África e Índia.

As plantas com potencial repelente a insetos mais conhecidas são a pimenta (geralmente as do gênero *Capsicum*, Solanaceae) e o alho (*Allium sativum*, Liliaceae). O cheiro forte causando repugnância e a irritação provocada pelo contato com compostos oriundos dessas plantas são um dos motivos de sua eficiência. Populações da Guatemala e Costa Rica, na América Central, borrifam até os dias atuais extratos provenientes dessas plantas em utensílios de armazenagem de grãos como silos para afugentar insetos broqueadores e até mamíferos roedores. Na cultura popular é comum referenciar receitas caseiras à base de plantas como erva-doce (*Foeniculum vulgare*, Apiaceae), arruda (*Ruta graveolens*, Rutaceae) ou eucalipto (*Eucalyptus globulus*, Myrtaceae) com intuito de repelir traças presentes em roupas.

Nos últimos 25 anos houve um grande esforço por parte de pesquisadores em todo o mundo em registrar centenas de metabólitos

secundários que apresentam efeito deterrente na alimentação ou mesmo efeitos tóxicos diretos em insetos através de bioensaios laboratoriais. Portanto, de maneira geral, não há questionamentos sobre o fato dos inseticidas botânicos oriundos de partes de plantas (folhas, galhos, raízes, flores ou sementes), extratos ou derivados (como os pós e óleos essenciais) apresentarem-se como uma promissora alternativa ao uso de produtos sintéticos convencionais presumivelmente devido ao fato daqueles produtos causarem menores impactos ambientais e à saúde do ser humano e não afetarem organismos não-alvo como artrópodes predadores, parasitoides, mamíferos, peixes, polinizadores, entre outros.

**Tabela 6.** Características de três diferentes táticas para proteção de plantas contra pragas que utilizam material biológico como componente principal.

Táticas de controle					
Controle químico		Controle biológico		Melhoramento genético de plantas	
Componente	Característica	Componente	Característica	Componente	Característica
Materiais botânicos	Produtos naturais puros (isolados da natureza e não modificados quimicamente)	Proteínas tóxicas produzidas por bactérias	Mais de 30 subespécies que ocorrem naturalmente e reconhecidas da bactéria <i>Bacillus thuringiensis</i> (Bt) produzem toxinas inseticidas.	Genes para doenças e resistência à pragas ou tolerância à herbicidas	Resistência cruzada ou tolerância para variedades de culturas com uso de métodos tradicionais ou engenharia genética
Compostos sintéticos	Derivados sintetizados (modificações de compostos isolados da natureza)	Baculovírus	Formas selvagens que ocorrem naturalmente ou vírus modificados que, uma vez ingeridos pelos insetos, interferem com seus processos metabólicos e levam-nos à morte.		
	Compostos sintéticos análogos aos naturais e sintetizados de modelos descobertos a partir de produtos naturais	Pesticidas à base de fungos	Inseticidas à base de fungos: três espécies de fungos são as principais fontes de inseticidas fúngicos conhecidos atualmente: <i>Verticillium</i> , <i>Metarhizium</i> e <i>Beauveria</i> .		
	Produtos sintéticos puros (não baseados em um único produto natural)		Herbicidas à base de fungos: fungos que afetam os processos metabólicos de espécies de plantas daninhas, matando-as.		
Produtos químicos que modificam o comportamento	Uso de versões naturais ou sintéticas de produtos químicos de comunicação intra ou interespecífica, como feromônios, para criar armadilhas ou produtos que interrompem os sinais químicos para acasalamento dos insetos.		Fungicidas à base de fungos e microsporídia.		

Continua...

**Tabela 6.** Características de três diferentes táticas para proteção de plantas contra pragas que utilizam material biológico como componente principal.

Táticas de controle					
Controle químico		Controle biológico		Melhoramento genético de plantas	
Componente	Característica	Componente	Característica	Componente	Característica
Reguladores de crescimento	Reguladores de crescimento dos insetos: Produtos químicos que interferem com o crescimento das pragas	Pesticidas à base de bactérias.	Bactericidas à base de bactérias, de fungos e inseticidas tendo como agente principal bactérias.		
	Reguladores de crescimento das plantas: produtos químicos como ácido giberélico pulverizados nas culturas para aumentar o tamanho e a qualidade do fruto ou para acelerar o seu amadurecimento	Predadores naturais, parasitoides e parasitas	Uma grande variedade de espécies, incluindo muitos artrópodes e nematoides que procuram e matam pragas.		

Adaptado de Kate e Laird (1999) citado por Beattie et al. (2005).

Na Tabela 7 são sumarizadas algumas vantagens do uso dos IBN's.

**Tabela 7.** Vantagens e desvantagens do uso de inseticidas botânicos naturais (IBN's).

Vantagens	Referência
Método de controle associado ao conhecimento tradicional de muitos agricultores, o que torna a tecnologia de fácil acesso e uso.	Isman (2008)
Geralmente os IBN's possuem outros usos atuando como repelentes de insetos (em ambientes domiciliares) ou são plantas com aplicações médicas.	Boer et al. (2010)

Continua...

**Tabela 7.** Vantagens e desvantagens do uso de inseticidas botânicos naturais (IBN's).

Vantagens	Referência
A degradação rápida dos compostos ativos diminui os riscos de resíduos nos alimentos, podendo inclusive ser pulverizados pouco antes da colheita.	Yang et al. (2011)
Muitos IBN's atuam com eficiência na inibição alimentar dos insetos, o que sugere um importante mecanismo de ação contra pragas.	Akhtar et al. (2008)
Como muitos proporcionam inibição alimentar, por atuarem especificamente no estômago das pragas, podem ser potencialmente seletivos aos inimigos naturais.	Hohmann et al. (2010)
A maioria dos estudos propõe pouca ou nenhuma fitotoxicidade às plantas.	Azizuddin e Choudhary (2011)
A resistência das pragas a esses compostos não é desenvolvida de forma tão rápida como acontece com os inseticidas sintéticos.	Isman (1997)
Desvantagens	
Alguns IBN's não são verdadeiramente inseticidas; ou seja, não matam insetos por contato (muitos são apenas deterrentes alimentares) e seu efeito é considerado lento.	Geng et al. (2011)
Podem ser degradados pela luz ultravioleta. Dessa forma, seu efeito residual é baixo.	Koul e Walia (2009)
Muitas plantas inseticidas são ofensivas a mamíferos e podem ter toxicidade igual ou superior a muitos produtos sintéticos.	Féres et al. (2006)
Sua disponibilidade pode ser variável devido a características fenológicas peculiares de cada planta.	Lahlou 2004
Muitos IBN's não possuem estudos sobre a tolerância dos resíduos que produzem.	Isman (2006)
Para a maioria dos IBN's não há registros legais sobre o estabelecimento das normas quanto ao seu uso.	Isman (2006)
Em alguns casos, as recomendações e utilizações por parte dos agricultores que detêm o conhecimento sobre o uso dos IBN's ainda não são amparadas por evidências científicas relevantes sobre sua eficiência, viabilidade e segurança a mamíferos.	Coats (1994)

Sob um ponto de vista prático, o uso e comercialização de IBN's ainda não apresentam correlação direta com a quantidade de informações disponíveis na literatura científica sobre suas vantagens. Entre o período de 1980 a 2000, apenas dois novos inseticidas botânicos (o nim e seu óleo essencial) foram registrados para fins de controle de pragas nos Estados Unidos e parte da Europa (ISMAN, 2006), sendo que hoje apenas quatro grandes grupos (citados mais adiante) são utilizados em ampla escala em ambos os hemisférios Norte e Sul. Um exemplo desse panorama é observado no estado da Califórnia (EUA) que fornece relatórios detalhados sobre o uso de pesticidas botânicos (ISMAN et al., 2011). Nesse Estado a maioria dos pesticidas botânicos é utilizada no controle de pragas domiciliares e de saúde pública, com poucos usos na agricultura. Segundo Isman (2008), o impacto comercial causado pelo inseticida microbiano *Bacillus thuringiensis* (Bacillales: Bacillaceae), por exemplo, é maior por suprimir totalmente (em alguns sistemas agrícolas) o uso de inseticidas sintéticos quando comparado aos inseticidas botânicos.

Três fatores limitantes são citados por Isman (2006) para explicar tais entraves: (a) sustentabilidade, (b) padronização dos extratos botânicos, e (c) aprovação por parte de agências regulatórias.

#### **(a) Sustentabilidade**

O principal problema enfrentado na exploração de compostos naturais originários de plantas, com caráter pesticida, é garantir sua oferta sustentável de disponibilidade a baixo custo. Os IBN's tendem a ser mais caros que os produtos sintéticos, sendo que muitos daqueles não são produzidos em grandes quantidades ou não são largamente comercializáveis (exemplo, nicotina). Apesar da rota mais fácil ser a coleta imediata de partes da planta em seu estado silvestre, esse procedimento pode limitar sua exploração sustentável.

Para ser produzido em escala comercial o inseticida botânico deve ter sua planta de origem cultivada em escala agrícola e, preferencialmente, que não haja sazonalidade na sua produção. Mesmo que determinada planta atenda esses requisitos iniciais, acima de tudo a mesma deve ser capaz de produzir grande quantidade de fitomassa para tal propósito, ou seja, precisa ser domesticada e seus aspectos fitotécnicos devidamente conhecidos (por exemplo, resposta à adubação, adaptação a diversos tipos de solo e condições ambientais, e outros).

Uma alternativa para a produção em massa de determinado vegetal que atenda a proposta de fornecedoras de moléculas químicas bioativas em quantidade seria o seu uso para outras finalidades, como por exemplo, *Annona squamosa* (Annonaceae) devido aos seus frutos, ou *Rosmarinus officinale* (Labiatae) por suas flores. As plantas de nim, *Azadirachta indica* (Meliaceae), atendem bem esse critério por serem fornecedoras de sombra, além do uso como quebra-vento e fonte de lenha. Essa estratégia é importante por evitar que haja a probabilidade de escassez da fonte natural a médio e longo prazo.

#### **(b) Padronização dos extratos botânicos**

A variação no desempenho de um produto em particular é frequentemente citada pelos usuários de inseticidas botânicos como um empecilho ao seu uso, mesmo quando esse produto é obtido através de similares protocolos metodológicos laboratoriais. Devido às diferenças verificadas pelas condições edafo-climáticas nas quais as plantas são submetidas, espera-se que haja previsível variação química. Em *commodities* baseadas em plantas isso é muito comum, como acontece com o café, vinho, chocolate, chá, e outros. Como exemplo, os extratos de sementes de *A. squamosa* coletadas na Indonésia demonstraram tanto variações geográficas quan-

to anuais nos seus constituintes químicos responsáveis pela ação inseticida (LEATEMIA; ISMAN, 2004).

Para amenizar tais questões há a necessidade de uma padronização no âmbito químico desses compostos, presumivelmente quando seus ingredientes ativos purificados forem obtidos. Quanto à elaboração de extratos, certamente tais problemas poderão continuar a ocorrer, principalmente nos casos em que o fornecedor não faça uso de métodos analíticos ou não tenha equipamentos suficientes para elaboração de suas análises em razão da quantidade de compostos químicos que atuam de forma sinérgica e que não possuem o mesmo comportamento eficaz quando mantidos de forma isolada (KOUL; WALIA, 2009). A existência de programas rigorosos de qualidade deve ser uma importante ferramenta para reduzir a falta de uniformidade na obtenção desses produtos como proposto por Hubinger et al. (2009).

### **(c) Aprovação por parte de agências regulatórias**

Comparativamente aos dois tópicos acima abordados, a aprovação por agências reguladoras é considerada como a principal barreira ao uso de inseticidas botânicos. Na Tabela 7, essa e outras desvantagens dos IBN's são citadas. Infelizmente em muitas jurisdições, como no caso do Brasil, nenhuma distinção é realizada entre pesticidas sintéticos e biopesticidas, incluindo os produtos de origem botânica. Além disso, se considerarmos que nos países de clima temperado os inseticidas botânicos são comumente utilizados em nichos específicos, como em parques, jardins, casas-de-vegetação e na agricultura orgânica, a margem de lucro das empresas que estão envolvidas com esses produtos naturais é tão baixa que na grande maioria dos casos não é viável economicamente enfrentar processos regulatórios que custam milhões. Essa situação, segundo Isman (2006), evita que muitos "inseticidas-verdes" alcancem o

mercado consumidor mesmo onde a demanda é alta. Atualmente, apenas cerca de 20 produtos inseticidas de origem botânica, distribuídos em 14 países, possuem seu uso aprovado (Tabela 8). Com isso, questões como a baixa toxicidade a mamíferos, efeitos reduzidos em organismos não-alvo e mínima persistência ambiental, que estão entre as principais vantagens apresentadas pelos inseticidas botânicos, continuam a aparentar estarem sendo totalmente relegadas.

**Tabela 8.** Inseticidas botânicos com uso aprovado em alguns países.

País	Piretro	Rotenona	Nicotina	Nim*	Outros
Austrália	X	X	-	-	Óleo de citrus
Nova Zelândia	X	X	-	X	-
Índia	X	X	X	X	Riania
Filipinas	X	-	-	-	-
Hungria	X	-	-	-	Quássia
Dinamarca	X	X	-	-	Citronela, cravo-da-Índia e óleos de eucalipto
Alemanha	X	-	-	X	-
Holanda	X	-	-	-	-
Reino Unido	X	X	X	-	-
África do Sul	X	-	-	-	-
Brasil	X	X	-	X	Alho
Estados Unidos	X	X	X	X	Óleos essenciais específicos, riania, sabadilla
Canadá	X	X	X	-	Óleos essenciais específicos
México	X	X	-	X	Alho e pimenta

\* Inclui inseticidas que citam azadiractina como ingrediente ativo. Adaptado de Isman (2006).

Diversos outros fatores ainda impedem que o uso dos IBN's seja amplamente utilizado na agricultura, não os tornando produtos com forte apelo comercial. Dentre eles, o desafio em proteger a propriedade intelectual de produtos obtidos da natureza; as dificuldades sintéticas e de viabilidade econômica, principalmente quando as moléculas naturais apresentam-se dotadas de vários centros quirais; o alto montante de capital inicial investido na atividade de procura por novas estruturas e moléculas químicas; interação interdisciplinar entre profissionais da química, biologia e agronomia apenas incipiente; competição infinitamente desigual com indústrias que aplicam altos investimentos almejando lucros exorbitantes e que atualmente controlam o mercado consumidor de defensivos agrícolas. Por fim, o rigor e a burocratização de leis oriundas dos países detentores de biodiversidade quanto à exploração da sua flora por empresas estrangeiras – herança de um passado baseado em atividades de biopirataria – que impedem que ocorram mais incentivos às descobertas de potenciais fitoquímicos.

Com todos os entraves acima citados, a previsão de que os IBN's possam substituir integralmente os produtos sintéticos ainda é utópica. Na verdade, diversos autores vêm considerando o uso dos produtos botânicos como alternativa ao método de controle convencional, em união a programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP), principalmente, pelo fato dos IBN's poderem ser utilizados de forma sinérgica com outros métodos de controle como feromônios, óleos, detergentes, fungos entomopatogênicos, predadores e parasitoides. Essa ideia integra o conceito de MIP na sua forma mais básica. Um exemplo seria o uso de IBN's aliados a diferentes métodos de controle de pragas com a finalidade de evitar casos de resistência como vem sendo registrado para *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) à bactéria *B. thuringiensis* e ao inseticida Spinosad devido ao uso excessivo desses dois produtos, microbiológico e químico, respectivamente (TANG et al., 1997; ZHAO et al., 2002).

Isman (2006) em sua discussão sobre o papel dos inseticidas botânicos no futuro afirma que em países industrializados dificilmente se imaginará tais produtos sendo mais utilizados do que os químicos sintéticos, com exceção dos sistemas agrícolas onde se preconiza menor ou nenhum uso de produtos sintéticos (como no caso da agricultura orgânica). Certamente nesse tipo específico de nicho, que cresce de 8% a 15% por ano na Europa e nos Estados Unidos, os inseticidas botânicos não encontrarão competidores. Isso reforça a ideia de que em países desenvolvidos o uso dos IBN's vem sendo mais preconizado em seguimentos específicos como em domicílios (controle de mosquitos e baratas) e jardins (ISMAN, 2006).

Todavia, o potencial das plantas e de seus subprodutos no controle de pragas surge como uma importante alternativa aos altos preços dos inseticidas mais modernos comercializados. Populações no Zimbábue, por exemplo, utilizam cerca de 20 diferentes extratos de plantas inseticidas em pequenas propriedades que obedecem a doutrinas agroecológicas. Além disso, extratos derivados de plantas nativas (como, por exemplo, a leguminosa *Swartzia madagascariensis*), exóticas (tabaco) ou produtos importados (muitos à base de piretro) são utilizados com sucesso como forma de viabilizar economicamente a produção vegetal em outras localidades africanas de baixo poder aquisitivo.

Apesar dos entraves enfrentados pelos inseticidas botânicos sob diversos prismas, como técnicos e jurídicos, a conscientização pública sobre o meio ambiente vem estimulando a demanda por esses produtos de forma constante em todas as partes do mundo. Segundo Gonzales-Coloma et al. (2010), o mercado de pesticidas sintéticos deverá apresentar uma queda à taxa de 1,5% ao ano, ao mesmo tempo em que o mercado de biopesticidas deverá atingir a marca de um bilhão de dólares nos próximos cinco anos.

O aumento considerável em pesquisas nessa área juntamente com os avanços na sistemática vegetal tem ajudado a elucidar muitas questões técnicas pertinentes aos IBN's. Além disso, técnicas para a sua produção em massa, armazenagem, transporte e aplicação têm sido elucidadas nos últimos anos. Apesar de muitos compostos químicos encontrados nas plantas não possuírem seus processos de síntese laboratorial viáveis, economicamente ou tecnicamente, um grande número, em contrapartida, está sendo produzido em laboratório com projeções de aumento de novas descobertas se considerarmos o repertório de biodiversidade da flora em escala global ainda não devidamente conhecida.

Aspectos estritamente técnicos, relacionados com os avanços na identificação, síntese e purificação de novas substâncias naturais biofabricadas pelo metabolismo secundário dos organismos vivos têm assumido importância e interesse multidisciplinar pelas contribuições conjuntas das seguintes ciências:

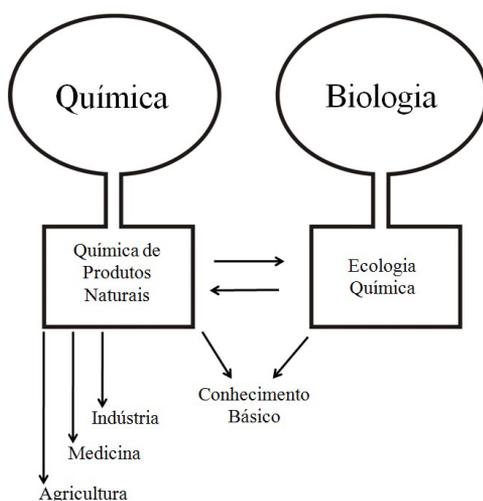
**Botânica**, através da avaliação e aperfeiçoamento de princípios de evolução fitoquímica; compatibilização de dados morfológicos e químicos no estabelecimento de sistema filogenético de classificação vegetal.

**Ecologia**, pela descoberta de mecanismos de adaptação e co-evolução de plantas em seus ambientes; estudos de defesa, polinização e dispersão de vegetais.

**Toxicologia**, através da avaliação da diversidade estrutural de diferentes classes de substâncias; novas substâncias para testes toxicológicos; descoberta de novos princípios biologicamente ativos; avaliação dos riscos na adoção de determinados vegetais como potenciais fontes de princípios ativos sob o meio ambiente, organismos não-alvo, pragas alvo, alimentos e ao ser humano.

**Química Orgânica**, pela elaboração de modelos para transformações químicas visando à obtenção de substâncias úteis, fonte de matérias-primas para a química fina (por exemplo, defensivos agrícolas, inseticidas, fungicidas, herbicidas, medicamentos para uso humano e uso veterinário, corantes e pigmentos, aditivos para alimentos, entre outros), modelos para sínteses parciais ou totais, substratos para testar reagentes e reações químicas e novas ideias para sínteses biomiméticas.

Para Eisner (2003) muitas novas áreas do conhecimento vêm surgindo pela forte convergência quanto às demandas de duas ou mais dessas disciplinas, como no caso da Ecologia Química que é produto da parceria entre biólogos e químicos de produtos naturais (ramo da química orgânica) (Figura 3).



**Figura 3.** A Ecologia Química e a Química de Produtos Naturais estão unidas em uma parceria produtiva com o objetivo de elucidar as bases químicas da ecologia e as complexas interações comportamentais envolvidas na natureza. Adaptado de Eisner (2003).

Dessa forma, quando a Química de Produtos Naturais é utilizada sob um caráter multidisciplinar, a probabilidade de obtenção de resultados consistentes e confiáveis aumenta e isso vem contribuindo para dar crédito às atividades de descoberta de novas moléculas naturais de origem botânica com potencial de controle de pragas e de aprimoramento investigativo daquelas em uso. Como exemplo, salientamos que 51% dos resumos apresentados sobre produtos naturais nas reuniões da Sociedade Brasileira de Química, entre 1997 a 2001, foram voltados à fitoquímica (Tabela 9).

**Tabela 9.** Distribuição anual dos resumos apresentados pela divisão de Produtos Naturais nas reuniões da SBQ (Sociedade Brasileira de Química), conforme classificação de áreas temáticas.

Classificação/ Ano	1997		1998		1999		2000		2001		Total	Média
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%		
Fotoquímica	80	(61)	90	(49)	108	(52)	79	(47)	98	(53)	455	51
Metodologia Analítica	19	(15)	42	(23)	36	(17)	28	(17)	17	(9)	142	16
Atividade Biológica	21	(16)	27	(15)	39	(19)	38	(22)	49	(26)	174	19
Ecologia Química	4	(3)	7	(4)	10	(5)	6	(4)	8	(4)	35	4
Síntese	2	(2)	2	(1)	3	(1)	1	(<1)	1	(<1)	9	1
Biossíntese e Bio-transformação	2	(2)	5	(3)	1	(1)	2	(1)	5	(3)	15	2
Biotecnologia	1	(<1)	2	(1)	1	(<1)	1	(<1)	2	(1)	7	1
Quimiosistemática	2	(2)	5	(3)	3	(1)	1	(<1)	2	(1)	13	2
Produtos Naturais												
Marinhos	4	(3)	3	(2)	4	(2)	3	(2)	0	(0)	14	2
Produtos Naturais de Microorganismos e Insetos	0	(0)	1	(<1)	1	(<1)	10	(6)	3	(2)	15	2
Total	135		183		207		169		185			

n= número de trabalhos. Adaptado de Pinto et al. (2002).

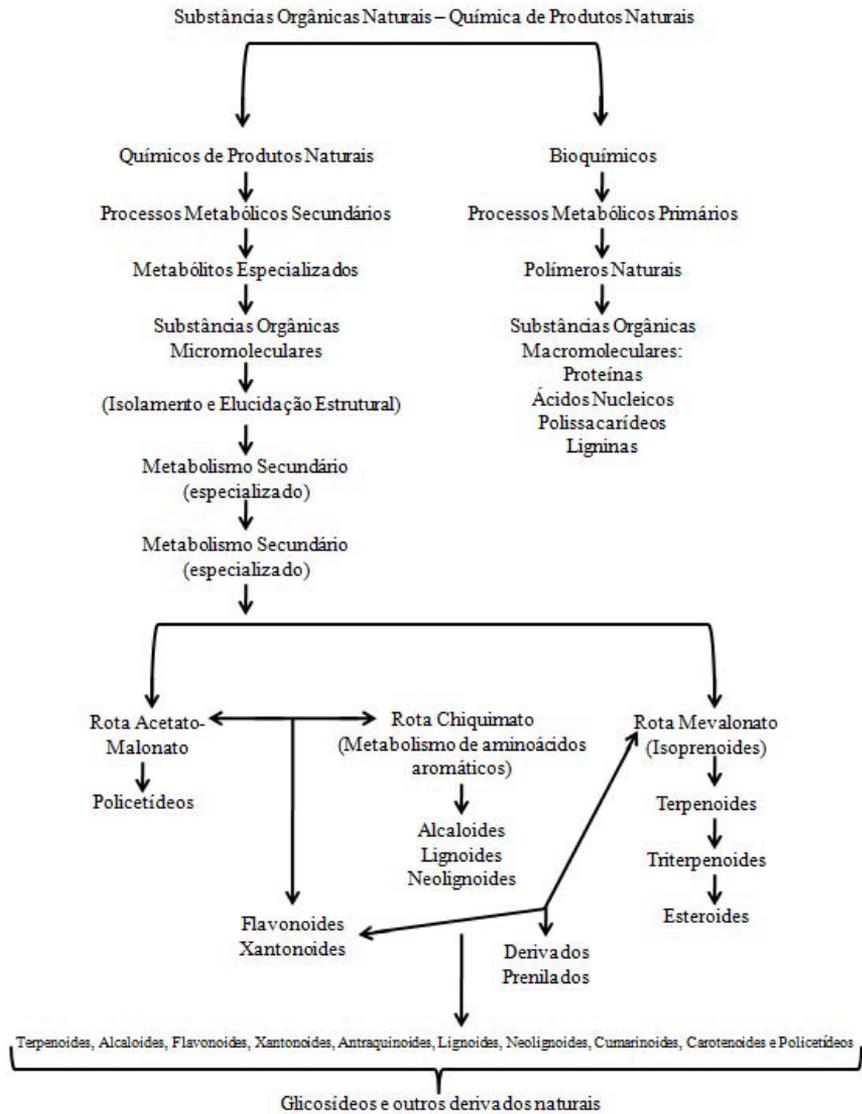
## **Características básicas dos inseticidas botânicos mais utilizados**

Um grande número de plantas vem sendo alvo de investigações quanto às suas atividades inseticidas. Na verdade, mais de 6000 espécies de plantas têm sido selecionadas e mais de 2500 espécies pertencentes a 235 famílias botânicas possuem algum tipo de atividade biológica contra diversos grupos de insetos-praga (SAXENA, 1998). Plantas das famílias Meliaceae, Rutaceae, Astera-ceae, Annonaceae, Labiatae (ou Lamiaceae) e Canellaceae são consideradas como as mais promissoras e há grande expectativa de aumento de novas descobertas se considerarmos a grande diversidade botânica existente, principalmente, em áreas tropicais e, com isso, o grande número de espécies que ainda não foram devidamente investigadas (JACOBSON, 1989). Segundo Benner (1993), apenas cerca de 10% dos compostos envolvidos com qualquer tipo de defesa das plantas foram quimicamente examinados, o que significa que moléculas novas (e talvez mais potentes) para utilização no controle de pragas ainda permanecem sob total desconhecimento científico.

Os IBN's vêm sendo utilizados através de extratos, óleos essenciais ou pelo uso de seus aleloquímicos puros. Esses últimos são compostos do metabolismo secundário das plantas (terpenoides, alcaloides, flavonoides, xantonoides, antraquinoides, lignoides, neolignoides, cumarinoides, carotenoides e policetídeos), também denominados de fitotoxinas (Figura 4) e que geralmente estão relacionados com a defesa química das plantas, podendo estar presentes tanto em extratos como em óleos essenciais. Os aleloquímicos têm tido suas propriedades químicas investigadas desde 1850

e suas propriedades biológicas são o principal foco das buscas por novos fármacos, antibióticos, inseticidas, herbicidas, e outros. (CROTEAU et al., 2000).

Os extratos são misturas concentradas de partes das plantas obtidas a partir de um adequado solvente que evapora, fazendo com que ocorra atuação do seu resíduo que, por isso, deve ser ajustado para um determinado padrão (dose). Os solventes metanólico, etanólico, acetônico, alcoólico, butanólico, clorofórmico, hexânico, e outros, possuem capacidade de atuar de forma sinérgica com a maioria dos metabólitos secundários e, por isso, são os mais utilizados. Os óleos essenciais, em contraste, são óleos fragmentados de plantas aromáticas, os quais são bastante difundidos em todo o mundo, muito embora 49% sejam provenientes de plantas das famílias Asteraceae e Lamiaceae (ROSS; SOMBRERO, 1991) e que possuem misturas de baixo peso molecular, portanto, bastante voláteis.



**Figura 4.** Substâncias orgânicas naturais micro- e macro-moleculares. Fonte: Braz-Filho (1994).

As quatro grandes classes de produtos botânicos utilizados no controle de insetos em todo o mundo atualmente, segundo Isman (2006) são: rotenona, azadiractina, piretrinas e óleos essenciais, cujas características serão descritas abaixo. Enfatizaremos também a nicotina, rianodina, piperinas e os quassinoides.

### Rotenona

O botânico e explorador francês Emmanuel Geoffroy (1862–1894) foi o primeiro a isolar a rotenona de plantas de *Robinia nicou* (Fabaceae), durante uma coleta realizada em viagem à Guiana Francesa. Sua motivação foi saber que índios nativos usavam plantas desse gênero como um veneno de captura de peixes (GEOFFROY, 1895). Atualmente, essa planta está redescrita como *Lonchocarpus nicou* (Fabaceae) (CHACON, 1973). Suas propriedades inseticidas são reconhecidas desde o século XIX (CAMINHA FILHO, 1940). No entanto, a rotenona teve potencial em causar desordem progressiva dos movimentos musculares do corpo (mal de Parkinson) após ser administrada em ratos (AMBROSE; HAAG, 1936; BETABERT et al., 2000). Desde 1932, mais de 47 substâncias bioativas foram extraídas de *L. nicou* (ZHOU; YOU, 2008).

A rotenona, uma substância inodora, pode ser extraída de raízes e talos de leguminosas de algumas espécies do gênero *Lonchocarpus* (timbó ou cube) que são nativas da América do Sul, como *Lonchocarpus utilis* e *Lonchocarpus urucu* e, também, de plantas do gênero *Derris* (Fabaceae) na Ásia, como *Derris elliptica* e *D. malaccensis*. Essas últimas originárias da Malásia e Sul da Índia. No oriente, o produto seco é conhecido como derris ou tuba (SPURR, 1949). Pode-se também obter a rotenona de outras leguminosas tropicais do gênero *Tephrosia* (Fabaceae) (BUSS; PARK-BROWN, 2002; STROLL, 1986; WIESBROOK, 2004).

Solventes orgânicos como o éter e a acetona são utilizados para se extrair a rotenona das raízes de plantas dos gêneros *Lonchocarpus*, *Derris* e *Tephrosia*. Produtos oriundos dessa substância fabricados de suas raízes são comercializados na forma de concentrados líquidos ou formulados em pó inertes. A síntese de rotenona é inviável comercialmente, devido à complexidade de sua molécula e, por isto, os produtos derivados de raízes *in natura* são usualmente os mais comercializados. Essas raízes podem ser comercializadas secas ou usadas para fabricação de produtos pulverizáveis ou misturados a um solvente para se produzir, posteriormente, uma formulação em pó (MENEZES, 2005).

A rotenona interrompe o metabolismo energético das mitocôndrias, interferindo na produção de adenosina trifosfato (ATP). Essa substância inibe o transporte de elétrons, pois atua como um inibidor da enzima NADH<sub>2</sub>-desidrogenase glutâmica da cadeia respiratória. Como a fosforilação oxidativa (um dos processos de formação do ATP) está acoplada ao transporte de elétrons, o ATP não é produzido na presença da rotenona, o que reduz as taxas respiratória e cardíaca em insetos (KATHRINA; ANTONIO, 2004; MATSUMURA, 1976).

Rotenona é moderadamente tóxica aos mamíferos e o valor da toxicidade oral e dermal (DL<sub>50</sub>) é de 60 e 1000 mg/kg, respectivamente (PACAN; LOUSTALOT, 1949). Insetos expostos a esse produto demonstraram, em geral, os seguintes sintomas: perda de apetite e da capacidade locomotora, paralisia e morte após alguns dias de exposição, o que sugere sua lenta atuação. Essa substância apresenta amplo espectro de ação por contato e ingestão, mas degrada rapidamente quando exposta à luz e calor (efeito residual por até uma semana). Atóxica para abelhas e moscas (Syrphidae) predadoras de pulgões, embora seja tóxica para peixes, joaninhas e ácaros predadores. Porém, não é fitotóxica.

A rotenona é usada contra besouros desfolhadores e frugívoros, como *Leptinotarsa decemlineata*, *Diabrotica* spp. e *Acalymma* spp. (todos Coleoptera: Chrysomelidae), além de lagartas, tripes, pio-lhos, mosquitos, pulgões, ácaros, carrapatos, pulgas, moscas e formigas lava-pé.

Essa substância pode ter sua eficiência melhorada quando misturada com piretrinas ou butóxido de piperonila (substância derivada do piretro) devido à ação sinérgica. É comercializada como pó seco ou molhável, nas concentrações de 1% e 5%, respectivamente e seus nomes comerciais incluem Bonide, Rotenone e Rotenone/Pyrethrum spray (KATHRINA; ANTONIO, 2004; MAKLOUF, 1986; WIESBROOK, 2004).

O preparo caseiro de extratos à base de rotenona de *Derris* spp. (derris) consiste em misturar um quilograma de raízes lavadas e cortadas em pedaços de um centímetro de comprimento ou transformadas em pó, em uma solução de 100 litros de água e 500 g de sabão. Essa mistura deve descansar por 24 horas e, em seguida, ser filtrada e aplicada sobre as plantas infestadas. Por outro lado, ao se utilizar *Lonchocarpus* spp. (timbó), deve-se preparar uma emulsão de 100 g de sabão, um litro de água e uma colher de chá de soda cáustica. Essa emulsão deve ser levada ao fogo, mexendo com uma colher de pau até a dissolução. Posteriormente, deve ser retirada do fogo e esfriada até o ponto de morno. Esse produto resultante deve ser colocado em uma mistura de 60 g de pó de raiz de timbó e 10 litros de água fria, coado e aplicado em seguida segundo recomendação descrita por Guedes (2001). Para o controle de formigas cortadeiras *Atta* spp. (Hymenoptera: Formicidae), recomenda-se aplicar 10 g de pó de timbó no olheiro principal do formigueiro (FERNANDES et al., 2005). O contato prolongado com o pó de derris pode causar erupções cutâneas em humanos e, por isso, deve ser evitado, através do uso de luvas apropriadas. Acon-

selha-se, também, o uso de máscaras, para evitar a sensação de entorpecimento dos lábios, língua e garganta (STROLL, 1986).

Uma limitação do uso dos extratos de rotenona tem sido o demorado processo de preparação e a sua curta vida útil. A previsão da meia-vida biológica ( $t_{1/2}$ ) e do prazo de validade ( $t_{90\%}$ ) do extrato dessa substância oriunda de *Derris* spp., a 30°C, foram 520 e 79 dias, respectivamente. Por outro lado, as formulações de pronto-uso na forma de grânulos (G) e de pré-mistura na formulação CE (concentrado emulsionável) dessa planta prolongaram a estabilidade dessa substância em oito ( $t_{90\%} = 633$  dias) e 1,4 vezes ( $t_{90\%} = 110$  dias), respectivamente. Essas formulações foram eficientes no controle da praga generalista *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) até o terceiro dia da pulverização destas sobre as plantas infestadas. Além disso, sua eficiência foi maior usando a formulação CE de derris solubilizado a um óleo do que em água (WIWAT-TANAPATAPEE et al., 2009).

O extrato de *Derris* spp. (Rotenat CE®, com 5% de rotenona) a 1200ml/100 litros causou 71,6% de mortalidade a *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) após tratamentos de ingestão e contato desse inseto com o produto (EFROM et al., 2011). As larvas dessa praga se alimentam particularmente da polpa dos frutos e, por vezes, também das sementes, possuindo como hospedeiros as plantas da família Myrtaceae, como goiaba, araçá, guabiroba, murta, uvaia, pitanga, além de plantas de outras famílias, incluindo maçã, pêsego, uva, nêspera, ameixa, mamão, citros, entre outras (GREGÓRIO et al., 2010).

Rotenona extraída das raízes de *D. elliptica* misturada com óleo oriundo das cascas de *Citrus reticulata* (Rutaceae) apresentou atividade sinérgica positiva contra *Panonychus citri* (Acari: Tetranychidae), um ácaro-praga de plantas cítricas, a uma proporção de 7:3 (rotenona: óleo de cascas de *C. reticulata*) com 50% de concentração letal ( $CL_{50}$ ) (ZENG et al., 2009).

Extratos de rotenona oriundos de raízes de *Derris amazonica* (Fabaceae), coletadas na reserva indígena Raposa Serra do Sol, em Roraima, Brasil apresentaram importância médica por causarem 100% de mortalidade ( $DL_{50} = 212$  mg/ml) do mosquito-palha *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) após 72 horas de exposição. Esse inseto é um importante vetor da leishmaniose visceral, doença causada pelo protozoário do gênero *Leishmania* (Trypanosomatida: Trypanosomatidae) (LUITGARDS-MOURA et al., 2002).

### Azadiractina

É um princípio ativo derivado de diferentes estruturas de *Azadirachta indica* (Meliaceae), como da casca, folhas, frutos, galhos e sementes, possuindo amplo espectro de ação. Essa planta é conhecida como nim e é originária da Índia. Seu cultivo vem sendo disseminado a outros continentes e em algumas regiões brasileiras, como Nordeste, Centro-Oeste e Sul. É a espécie botânica mais estudada e destaca-se pela alta eficiência contra insetos e baixa toxicidade aos humanos (MARTINEZ, 2002).

Em mamíferos, a toxicidade oral e a dermal ( $DL_{50}$ ) de azadiractina são de 13000 mg/kg e >10000 g/kg, respectivamente. Casos de resistência ou tolerância a essa substância, atuando como inseticida após vários anos de uso, ainda não foram verificados quando comparamos a frequência de casos que ocorrem com o uso de inseticidas sintéticos. Porém, Cordeiro et al. (2010) relataram certo grau de irritabilidade do óleo de nim a crisopídeos (ordem Neuroptera), insetos predadores de muitas pragas agrícolas presentes em diversos agroecossistemas. Todavia, os efeitos secundários de azadiractina sobre predadores e parasitoides dependem de diversos fatores, como a espécie, concentração e tipo de produto (SCHMUTTERER, 1997; STARK et al. 1992). Contudo, os inseticidas naturais derivados de nim são biodegradáveis e, por isto, não deixam resíduos

tóxicos no ambiente, o que fortalece o uso dos seus extratos na agricultura orgânica, onde o uso de agrotóxicos orgânicos sintéticos é proibido (CIOCIOLA JUNIOR; MARTINEZ, 2002).

Vinte e cinco substâncias bioativas foram extraídas das plantas de nim e, pelo menos, nove afetam o crescimento e o comportamento dos insetos. Essas substâncias são os triterpenoides (limonoides), dos quais a azadiractina, nimbina e salanina são as mais importantes, com efeitos específicos nas diferentes fases de crescimento dos insetos. Todas as frações do nim possuem essas substâncias, porém a concentração depende da estrutura vegetal coletada, sendo geralmente mais alta nas sementes, mas variável com as condições ambientais e de processamento (despolpamento, secagem e armazenamento) (MARTINEZ, 2002). A azadiractina é suscetível à exposição ao calor e à luz e, por isso, o período apropriado para a aplicação no campo é ao amanhecer ou ao entardecer. Após quatro horas de exposição à luz solar, a atividade da azadiractina pode ser reduzida a 60%. O efeito residual dessa substância dura de dois a sete dias (CIOCIOLA JUNIOR; MARTINEZ, 2002; MARTINEZ, 2002).

Nimbina e salanina causam efeito repelente e antialimentar em Coleoptera (adultos), Hemiptera (adultos) e Orthoptera. Nimbina causa, também, repelência a algumas espécies de nematoides fitófagos (CHITWOOD, 1992; NEVES et al., 2003).

A azadiractina e seus derivados também inibem o crescimento e alteram a metamorfose de larvas de Lepidoptera, Coleoptera, Hymenoptera, Diptera e ninfas de Orthoptera, além de atuarem como substâncias inibidoras da alimentação em adultos de Coleoptera, Hemiptera e Orthoptera. Essas substâncias são, também, repelentes ou deterrentes de oviposição e reguladoras de crescimento em diversas ordens de insetos (REMBOLD et al., 1982; RUSCOE, 1972). O óleo emulsionável (1,25 ml/l de água) e os extratos aquosos de folhas (20%) e sementes (1,5%) de nim reduziram em 50%

o número de ovos depositados pelo bicho-mineiro do café, *Leucop-  
tera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae), após pulverização sobre  
plantas dessa rubiácea (MARTINEZ, 2002). A fecundidade de fê-  
meas adultas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae)  
foi levemente reduzida e a fertilidade drasticamente afetada após  
tratamento com óleo emulsionável de nim a 2,25 ml/l de água. Além  
disso, lagartas dessa espécie não eclodiram de ovos tratados com  
esse produto a concentrações igual ou superior a cinco mililitros por  
litro. A eclosão de lagartas de *L. coffeella* também foi reduzida em  
50% após tratamento de ovos dessa espécie com o produto a 1,25  
ml/l de água (MARTINEZ, 2002).

A interferência do nim no sistema neuroendócrino de insetos é ma-  
nifestada por uma desordem hormonal nas diferentes etapas do  
processo de crescimento dos mesmos, afetando os hormônios da  
ecdise (ecdisona e 2-hidroxi-ecdisona) e o hormônio juvenil (HJ).  
Insetos expostos às substâncias oriundas do nim apresentam o  
tegumento, asas, pernas e outras partes do corpo deformadas. A  
maioria desses efeitos tem sido observada nos estágios larval ou  
ninfal, quando a substância se torna mais ativa (MARTINEZ, 2002).

O nim pode apresentar efeito antialimentar em insetos, como re-  
latado para gafanhotos e lagartas. Esses insetos tratados com  
azadiractina cessam sua alimentação e morrem após vários dias  
do início da exposição. Essa substância pode também atuar como  
repelente, mantendo os insetos afastados das áreas pulverizadas  
(CIOCIOLA JUNIOR; MARTINEZ, 2002; KATHRINA; ANTONIO,  
2004). Produtos derivados de nim possuem capacidade de afetar,  
aproximadamente, 400 espécies de insetos das ordens Coleopte-  
ra, Diptera, Hemiptera, Hymenoptera e Lepidoptera. Alguns desses  
são apresentados na Tabela 10.

A azadiractina pode afetar os insetos por ingestão e contato, po-  
rém sua ação tem sido maior por ingestão. Lagartas de *Spodoptera*

*frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) tiveram 32,2% de mortalidade após o 10º dia da pulverização com extratos de folhas de nim a um por cento (p/v) e 83,7% após alimentação com folhas de milho tratadas com o produto (MARTINEZ, 2002). A mortalidade de lagartas de dois, quatro e seis dias de idade de *S. frugiperda* foi 72,91, 83,33 e 89,58%, respectivamente, com óleo de nim (Natuneem®) a 0,25% diluído em água, enquanto que a do seu predador, larvas de quatro dias de idade de *Eriopis conexa* (Coleoptera: Coccinellidae), foi de 25% sob condições laboratoriais (TAVARES et al., 2010a). Isto sugere que o nim possa ser usado em programas de controle dessa lagarta por apresentar certo grau de seletividade ao seu inimigo natural.

**Tabela 10.** Pragas agrícolas controladas com extratos aquosos dos frutos de nim, *Azadirachta indica* (Meliaceae).

Cultivo (Nome científico)	Praga		Dose (g/l de água)
	Nome científico	Nome comum	
Berinjela ( <i>Solanum elongata</i> )	<i>Bemisia tabaci</i>	Mosca-branca	50
	<i>Spodoptera spp.</i>	lagarta-militar	25
	<i>Phthorimaea operculella</i>	traça-da-batata	25
	<i>Corythaica cyathicollis</i>	Percevejo-de-renda	50
Tomate ( <i>Lycopersicon esculentum</i> )	<i>Bemisia tabaci</i>	Mosca-branca	37
	<i>Spodoptera spp.</i>	lagarta-militar	25
	<i>Manduca sexta</i>	mandarová-do-fumo	25
	<i>Helicoverpa zea</i>	Lagarta-da-espiga	25
	<i>Helicoverpa virescens</i>	Lagarta-das-maçãs	25
	<i>Liriomyza trifolii</i>	Mosca-minadora	25
	<i>Liriomyza sativae</i>	Mosca-minadora	25
	<i>Trichoplusia ni</i>	Lagarta-mede-palmo	25
Pepino ( <i>Cucumis sativus</i> )	<i>Pseudoplusia includens</i>	Lagarta-falsa-medideira	25
	<i>Bemisia tabaci</i>	Mosca-branca	50
	<i>Diaphania hyalinata</i>	Broca-das-cucurbitáceas	25

Continua...

**Tabela 10.** Pragas agrícolas controladas com extratos aquosos dos frutos de nim, *Azadirachta indica* (Meliaceae).

Cultivo (Nome científico)	Praga		Dose (g/l de água)
	Nome científico	Nome comum	
Melão ( <i>Cucumis melo</i> )	<i>Diaphania nitidalis</i>	Broca-das-cucurbitáceas	25
	<i>Liriomyza trifolii</i>	Mosca-minadora	25
	<i>Lipaphis erysimi</i>	Pulgão-das-brássicas	50
Repolho, couve-flor, e outros. ( <i>Brassica</i> spp.)	<i>Plutella xylostella</i>	Traça-das-crucíferas	25
	<i>Brevicoryne brassicae</i>	Pulgão-do-repolho	50
	<i>Trichoplusia ni</i>	Lagarta-mede-palmo	25
	<i>Spodoptera frugiperda</i>	lagarta-do-cartucho	25
Feijão ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )	<i>Bemisia tabaci</i>	Mosca-branca	50
Milho ( <i>Zea mays</i> )	<i>Spodoptera frugiperda</i>	lagarta-do-cartucho	25
	<i>Helicoverpa zea</i>	Lagarta-da-espiga	25
	<i>Bemisia tabaci</i>	Mosca-branca	50
Alho ( <i>Allium sativum</i> )	<i>Spodoptera</i> spp.	lagarta-militar	25
	<i>Manduca sexta</i>	Mandarová-do-fumo	25
	<i>Helicoverpa virescens</i>	Lagarta-das-maçãs	25
	<i>Aphis gossypii</i>	Pulgão-do-algodão	50

Fonte: Ciociola Junior e Martinez (2002), Martinez (2002) e Kathrina e Antonio (2004).

A eclosão de lagartas em ovos recém-depositados de *S. frugiperda* foi 7,5% e 6,2% após o tratamento com óleo de nim (Natuneem®) a 1% e 2%, respectivamente, quando diluído em água; 13,7% e 7,5% em ovos de um dia de idade e 15% e 7,5% em ovos de dois dias de idade dessa espécie. No entanto, lagartas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Noctuidae), a broca-da-cana-de-açúcar, não eclodiram de ovos recém depositados de um ou dois dias de idade, quando tratados com esse produto. Isto foi explicado pela menor resistência dos seus ovos aos produtos derivados de nim (TAVARES et al., 2010b).

O princípio ativo do nim, a azadiractina, é uma molécula complexa e, por isto, de difícil síntese em laboratório. Isto explica o porquê dos extratos das folhas, sementes e frutos e os subprodutos dessa extração ainda serem os principais itens comercializados no mercado. Os produtos inseticidas de nim são solúveis em água e podem ser preparados de uma maneira simples e barata por pequenos e médios agricultores, inclusive para uso na agricultura orgânica (MENEZES, 2005). Alguns desses produtos são descritos a seguir.

- **Extrato aquoso de folhas e sementes moídas**

As substâncias inseticidas de nim concentram-se mais nos cotilédones das sementes, mas também encontram-se nas folhas. Dessa forma, para fabricar o inseticida, as sementes ou as folhas devem ser trituradas e a farinha resultante dessa trituração deve ser a mais fina possível para permitir uma melhor mistura com o solvente. Essa farinha deve ser fabricada de 10 a 12 horas antes da aplicação do inseticida, o que contribui para que as substâncias se dissolvam uniformemente na água.

Após esse período, o líquido é filtrado e pulverizado sobre as áreas infestadas da planta. A quantidade de sementes moídas para a mistura é dependente do conteúdo de azadiractina e do tipo e densidade populacional da praga nos cultivos. Geralmente, recomenda-se de 25 a 40 g de sementes secas e moídas por litro de água. Os extratos de folhas têm menor concentração de azadiractina, recomendando-se de 40 a 50 g de folhas secas trituradas por litro de água. Para se fabricar os extratos a serem armazenados, os frutos de nim devem ser colhidos, secos ao sol entre dois e três dias, e mantidos mais dois dias fora da luz solar direta; posteriormente, devem ser despulpados manualmente em água ou com despulpadeira usada na cafeicultura. Essas sementes devem ser bem secas e armazenadas à baixa temperatura (CIOCIOLA JUNIOR; MARTINEZ, 2002; NEVES et al., 2003).

- **Extrato alcoólico**

O extrato alcoólico do nim é preparado a partir da torta de sementes descascadas, resultante da separação do óleo dessas sementes, sendo que o etanol é o solvente mais apropriado para esse fim. Porém, para o processo de extração com qualidade, um equipamento sofisticado e mais caro é requerido. A dose recomendada é de 4,5 cc/litro de água (0,45%) (MARTINEZ, 2002; KATHRINA; ANTONIO, 2004; STROLL, 1986).

- **Óleo cru**

O óleo cru de nim é obtido após prensagem das sementes descascadas dessa planta. Essas sementes possuem, no máximo, 47% de óleo cru. Cada quatro quilogramas de sementes com casca produz ao redor de 0,5 litros de óleo, que contém 0,1% de azadiractina. Existem métodos caseiros para a extração do óleo cru sem a necessidade de equipamentos específicos. No entanto, métodos mais sofisticados, como aqueles com o uso de prensa elétrica, que esquentam o material antes de ser prensado, podem ser encontrados no comércio. Outro método consiste na extração com solventes orgânicos e, nesse caso, requer um equipamento a vapor. Esse último método tem a desvantagem de extrair somente as substâncias mais voláteis (KATHRINA; ANTONIO, 2004).

O óleo de nim contém 0,1% de azadiractina (1000 ppm) e tem propriedades inseticidas. Produtos fabricados desse óleo têm sido usados para a conservação de grãos armazenados contra pragas de armazéns, como os carunchos (Coleoptera). As sementes de leguminosas armazenadas são atacadas por gorgulhos (Bruchidae), cujas larvas penetram e se alimentam dos grãos. Esses gorgulhos podem ser controlados com a mistura dos grãos das leguminosas com o óleo de nim. A quantidade de óleo a ser usada para essa

finalidade é considerada pequena: 400 ml por 100 kg de sementes (MARTINEZ, 2002; STROLL, 1986).

- **Óleo formulado**

O mercado disponibiliza formulações concentradas a 50% de óleo de nim adicionado a um emulsificante e água. No momento da aplicação, o produto deve ser misturado com água até a concentração de 5 cc (0,25% de óleo) ou 10 cc (0,5% de óleo) por litro de água. Isto significa uma necessidade de 2,5 ou cinco mililitros de óleo formulado, respectivamente, para aplicação em um hectare de cultivo infestado (CIOCIOLA JUNIOR; MARTINEZ, 2002; KATHRINA; ANTONIO, 2004; NEVES et al., 2003).

- **Torta de nim**

A torta de nim é o resíduo das sementes após a extração do óleo, através da prensagem. Essa torta contém os princípios ativos em uma forma mais concentrada (90% do conteúdo de azadiractina da semente), o que requer menos matéria-prima para a preparação do inseticida. Para cada quatro quilogramas de sementes com casca produz-se um quilograma de torta, a qual é usada no preparo do extrato aquoso (após a torta ser secada) ou incorporada ao solo, para fins nematicidas e como um adubo orgânico. A dose recomendada é de 15 g por litro de água, o que significa 7,5 kg/ha (em 500 l de água). A torta de nim pode ser incorporada no solo de viveiros para o controle de pragas subterrâneas. Recomenda-se usar uma solução à razão de 200 a 400 kg/ha ou um quilograma para 10-15 m<sup>2</sup> de terra contra pragas de solo, como grilos e nematoides (KATHRINA; ANTONIO, 2004 ; MARTINEZ, 2002; STROLL, 1986).

## Piretrinas

As piretrinas, tecnicamente denominadas de piretrina I e piretrina II, são ésteres constituintes do piretro e que possuem atividade inseticida. O piretro é um pó obtido das flores moídas de *Chrysanthemum um cinerariaefolium* e outras espécies desse grupo, como *Chrysanthemum coccineum* (ambas Asteraceae). Essa substância foi introduzida na Europa em 1800 e esteve em uso no mundo a partir de 1850. A atividade inseticida do piretro é proporcionada também por mais outros quatro ésteres: jasmolina I, jasmolina II, cinerina I e cinerina II. As piretrinas I e II apresentam-se em maiores quantidades nas plantas de crisântemo. O pó puro de piretrinas pode ser usado como inseticida, mas os extratos obtidos com éter, acetona, ácido acético glacial e metanol são mais eficientes (BUSS; PARK-BROWN, 2002; KATHRINA; ANTONIO, 2004; MATSUMURA, 1976; STROLL, 1986; WIESBROOK, 2004).

A produção atual de piretrina é maior no Quênia (África Oriental), pois as flores apresentam uma concentração mais alta dessa substância (de 1,3% a 3,0%) comparada com aquelas produzidas em outros países, como o Japão ou no Leste da Europa. Os crisântemos são mais produtivos a altitudes de 1600 m e em condições semiáridas, onde o inverno possui clima ameno. Em solos muito férteis a produção de piretrinas é baixa.

As piretrinas derivadas das plantas de crisântemo são muito tóxicas e de rápida ação contra os insetos, embora sejam pouco tóxicas por via oral ou dermal aos mamíferos, com  $DL_{50}$  maior que 1000 mg/kg (KATHRINA; ANTONIO, 2004; MATSUMURA, 1976).

As piretrinas agem por contato ou ingestão em insetos. No entanto, são muito usadas como um inseticida domissanitário, no controle de ectoparasitos em humanos e animais domésticos, aerossóis contra moscas e em pragas de grãos armazenados. Seu uso em cultivos agrícolas no campo tem sido limitado devido à baixa atividade re-

sidual, o que requer frequentes aplicações. As marcas comerciais disponíveis no mercado incluem Pyrenone e Pyrellin (BUSS; PARK-BROWN, 2002; STROLL, 1986).

Espécies de insetos são altamente susceptíveis a uma solução à baixa concentração de piretrinas. Essas substâncias apresentam ação neurotóxica, pois interagem com os canais de íons de sódio e potássio presentes na membrana do axônio, prolongando ou impedindo o fechamento normal dos mesmos. Isto permite um fluxo excessivo de íons  $\text{Na}^{++}$  para o interior da célula nervosa. A consequência desse fato é a hiperexcitabilidade do sistema nervoso central, devido à transmissão continuada e descontrolada de impulsos nervosos, resultando em perda da postura locomotora e paralisia, seguido de morte do inseto (KATHRINA; ANTONIO, 2004; MATSUMURA, 1976).

Os inseticidas sintéticos que mimetizam a ação das piretrinas são conhecidos como piretroides (por exemplo, bifentrina, ciflutrina e permetrina). Em virtude dos efeitos tóxicos das piretrinas serem reversíveis, substâncias sinergistas são adicionadas aos inseticidas comerciais, como o butóxido de piperolina, que bloqueia o metabolismo de desintoxicação dos insetos. As piretrinas têm atividade inseticida contra uma variedade de insetos, como moscas, pulgas, pulgões, tripes, mosquitos, mosca branca, cigarrinhas, lagartas, cochonilhas, besouros e piolhos, além de ácaros (KATHRINA; ANTONIO, 2004; WIESBROOK, 2004).

O preparo caseiro dos extratos de piretrinas pode ser feito adicionando 500 g de piretro em 200 l de água, seguido de repouso durante 30 minutos e mistura em 20 g de sabão de coco (não usar detergente, mesmo que à base de coco). Esse composto resultante deve ser coado e aplicado em seguida no local infestado. Em pó, o piretro pode ser usado junto a um veículo, como talco ou terra diatomácea. Apesar de apresentar baixa toxicidade aos mamíferos,

o contato prolongado do piretro com a pele pode causar vômitos e dor de cabeça. Isto sugere que deve-se evitar o contato direto com o produto, usando luvas apropriadas. Além disso, aconselha-se o uso de máscara em seu manuseio (STROLL, 1986).

Extratos etanólicos de outras espécies vegetais da família Asteraceae, como *Lychnophora ericoides* e *Trichogonia villosa*, a 1% de concentração causaram 97,7% de mortalidade de ovos de um dia de idade de *S. frugiperda*. Extratos de *Vernonia holosenicea*, *Lychnophora ramosissima* e *Chromolaena chaseae* na mesma concentração causaram maior impacto sobre a largura da cápsula cefálica, comprimento e peso do corpo de *S. frugiperda*, enquanto os de *Eremanthus elaeagnus* e *L. ericoides* foram mais seletivos para os parasitoides de ovos *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae) (TAVARES et al., 2009).

### Óleos Essenciais

De maneira geral, muitos óleos essenciais, enquanto misturas, possuem potencial em controlar uma grande variedade de pragas, particularmente, quando são aplicados como fumigantes devido a sua natureza volátil.

Muitos óleos essenciais são conhecidos pelas suas propriedades no controle de pragas, como os óleos das plantas *Cymbopogon winterianus*, *Eucalyptus globulus*, *Rosmarinus officinalis*, *Vetiveria zizanioides*, *Eugenia caryophyllus* e *Thymus vulgaris*. Espécies do gênero *Mentha*, como *Mentha piperita* e *Mentha pulegium* são capazes de repelir formigas, moscas, carrapatos, mosquitos e mariposas. *Mentha spicata* e *Ocimum basilicum* são também efetivas para os mesmos propósitos. Os efeitos inseticidas de óleos essenciais extraídos de 11 plantas aromáticas da Grécia sobre a mosca

*Drosophila auraria* (Diptera: Drosophilidae) são bem conhecidos (KONSTANTOPOULOU et al., 1992).

Diversas plantas do Mediterrâneo são ricas em óleos essenciais e com ação inseticida comprovada contra Bruchidae, importante família de besouros que atacam grãos armazenados (REGNAULT et al., 1993). De forma similar, as plantas *Artemisia vulgaris*, *Melaleuca leucadendra*, *Pelargonium roseum*, *Lavandula angustifolia*, *M. piperita* e *Juniperus virginiana* são eficientes contra vários insetos e fungos patogênicos (KORDALI et al., 2005). Óleos voláteis de espécies do gênero *Mentha* ou extratos de plantas de *S. longepedunculata* também inibem o desenvolvimento de pragas de grãos armazenados (JAYASEKARA et al., 2005). O óleo essencial contido nas espécies *Cinnamomum zeylanicum*, *Cymbopogon citratus*, *Lavandula angustifolia* syn., *Lavandula officinalis*, *Tanacetum vulgare*, *Rabdosia melissoides*, *Acorus calamus*, *Eugenia caryophyllata*, *Ocimum* spp., *Gaultheria procumbens*, *Cuminum cyminum*, *Bunium persicum*, *Trachyspermum ammi*, *Foeniculum vulgare*, *Abelmoschus moschatus*, *Cedrus* spp. e *Piper* spp. também são conhecidos pelas suas variadas propriedades contra insetos-praga (KOUL et al., 2008).

O óleo essencial de citronela (*Cymbopogon nardus*) tem sido usado por mais de 50 anos para repelir tanto insetos quanto animais. O preparo de algumas gotas dos óleos essenciais de citronela, limão, roseira, alfazema e manjeriço em um litro de água destilada constituem-se de uma forma altamente efetiva de repelir insetos no interior de nossas casas. A atividade larvicida do óleo de citronela tem sido atribuída, principalmente, ao seu constituinte de ordem monoterpênica, o citronellal (ZARIDAH et al., 2003). O óleo essencial do capim-vetiver (*Vetiveria zizanioides*) obtido pela destilação dos vapores dos compostos aromáticos presentes em sua raiz contém um grande número de sesquiterpenos oxigenados. Esse tipo de

óleo é conhecido como um meio eficaz de proteger roupas e outros materiais de valor contra o ataque de insetos quando depositados em guarda-roupas, gavetas e outros compartimentos domésticos.

Muitos outros óleos essenciais como aqueles de *Ocimum sanctum*, *Satureja hortensis*, *Thymus serpyllum* e *Origanum creticum*, *Ageratum conyzoides*, *Aegle marmelos* e *Lippia alba* são potencialmente tóxicos e inibidores do crescimento de lagartas da espécie *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) (ISMAN et al., 2001; SHARDA; RAO, 2000; SHARMA et al., 2001; TRIPATHI, 2003).

## Nicotina

Nicotina foi reconhecida como o principal ingrediente ativo do tabaco em 1890, que é o nome comum de plantas do gênero *Nicotiana* (Solanaceae). A espécie mais cultivada desse grupo é *Nicotiana tabacum*, a mais rica em nicotina. Essa substância é também extraída em menor quantidade de outras Solanaceae, como *Nicotiana rustica* e *Nicotiana glutinosa*. *Nicotiana* spp. são vegetais originários do continente Americano. Como uma curiosidade, a palavra nicotina é derivada do sobrenome do diplomata francês Jean Nicot (1530–1600), grande difusor do tabaco na Europa. Extratos dessa planta foram usados contra insetos a partir de 1690 na Inglaterra (GEORGE et al., 2000).

A nicotina é substância alcaloide, de caráter básico, permanecendo em estado líquido quando mantida à temperatura fora da luz solar direta e com coloração amarelada. Essa substância tem sido extraída de tabaco por uma base (álcali) e destilação a vapor ou por benzeno, éter e tricloroetileno. Na indústria, é obtida de todas as partes de *N. tabacum* para comercialização como um inseticida respiratório de uso agrícola, sob a forma de sulfato de nicotina neu-

tro, que possui solubilidade alta em água e como um vermífugo na pecuária. Os extratos comercializados de folhas de *N. tabacum* têm apresentado concentrações entre dois e 14% de nicotina (KATHRINA; ANTONIO, 2004).

É uma substância neurotóxica com uma estrutura semelhante a acetilcolina (ACh), que é o principal neurotransmissor excitatório no sistema nervoso central dos insetos. Sendo assim, é um agonista desse neurotransmissor, pois imita sua ação, competindo pelos receptores na membrana pós-sináptica dos neurônios. A ligação desses receptores com a nicotina é persistente, devido a insensibilidade à ação da acetilcolinesterase (enzima de degradação da ACh). A ativação dos receptores da ACh pela nicotina é prolongada de modo anormal, causando hiperexcitabilidade do sistema nervoso central, devido à transmissão contínua e descontrolada de impulsos nervosos, culminando em tremores, paralisia e morte do inseto (MATSUMURA, 1976; MINEUR et al., 2011).

Esse alcaloide apresenta toxicidade aos humanos, pois é absorvido facilmente pelos olhos, pele e mucosa. A  $DL_{50}$  oral de nicotina para mamíferos é de 3188 mg/kg e a dermal entre 50 e 60 mg/kg (KATHRINA; ANTONIO, 2004). O uso de Equipamento de Proteção Individual (EPI) é, portanto, essencial aos aplicadores de produtos à base de nicotina. Formulações líquidas concentradas de nicotina têm apresentado 40% de sulfato de nicotina e esses produtos são comercializados como fumigantes para cultivos em casa-de-vegetação contra insetos sugadores, principalmente aqueles de corpo mole, como pulgões, mosca branca, cigarrinhas e tripes, além de ácaros. No entanto, a efetividade da nicotina é maior quando aplicada em dias ou horários com temperatura próxima a 30°C (BUSS; PARK-BROWN, 2002; STROLL, 1986; WIESBROOK, 2004). Produtos à base de nicotina são eficientes, principalmente quando usados em programas de manejo de pragas de grãos armazenados (BOEKE et al., 2003, 2004; OPOLOT et al., 2006).

O preparo caseiro de produtos à base de nicotina consiste em colocar sete litros de água fervente e 500 g de sabão de coco em 500 g de talos e folhas frescas de tabaco. Essa mistura deve permanecer coberta com pano por 24 horas. Após esse período, deve ser filtrada e aplicada imediatamente sobre as plantas infestadas. Por outro lado, ao se utilizar o fumo de corda, 100 g deste deve ser cortado em pedaços pequenos e colocado em uma mistura de 0,5 l de álcool e 0,5 l de água. Esse preparo deve ser curtido durante 15 dias. Após esse período, uma mistura de 100 g de sabão neutro dissolvido em 10 l de água deve ser adicionada àquela curtida de fumo e álcool/água. Esse produto deve ser pulverizado nas plantas, em mesma concentração, em infestações intensas, ou diluído em até 20 l de água em casos de baixas infestações. Como observação, deve-se esperar um período de carência de três a quatro dias após a aplicação de extratos de nicotina sobre plantas comestíveis (MENEZES, 2005).

### Rianodina

É um dos alcaloides com propriedades inseticidas existentes nos talos e nas raízes de *Ryania speciosa* (Flacourtiaceae). Os preparados inseticidas à base de rianodina contêm de 0,16% a 0,20% desse alcaloide. Essa planta é nativa da América do Sul, embora a principal produção provenha de plantas cultivadas em Trinidad, a mais populosa ilha que forma o país Trinidad e Tobago. Além disso, tem sido usada nos Estados Unidos desde 1940. Dos 11 compostos alcaloides identificados nos extratos dessa planta, os mais abundantes e os mais tóxicos aos insetos são a rianodina e a 9,21-deshidrorianodina (KATHRINA; ANTONIO, 2004).

A maioria das formulações comerciais de rianodina é em pó (50% do pó de *R. speciosa*), embora os alcaloides possam ser extraídos em água, álcool, acetona, éter e clorofórmio. Esses produtos

são comercializados em formulações líquidas ou em pó molhável. A rianodina é mais estável do que a piretrina e a rotenona. Isto propicia uma atividade residual mais longa, chegando a até duas semanas de controle após a aplicação, e é mais seletiva às pragas. Atóxica para parasitoides e predadores, exceto aos percevejos predadores *Atractotomus mali* e *Diaphnocoris* spp. (Heteroptera: Myridae) (BUSS; PARK-BROWN, 2002; STROLL, 1986; WIESBROOK, 2004).

A rianodina tem modo de ação bastante peculiar, pois se liga irreversivelmente aos canais de cálcio das fibras musculares, que permanecem abertos, deixando os íons  $Ca^{++}$  livres para inundar o interior das fibras. Isto induz a contração dos músculos esqueléticos, causando paralisia muscular nos insetos. A toxicidade oral ( $DL_{50}$ ) de rianodina em mamíferos é 1000 mg/Kg e a dermal, 4000 mg/Kg. Apresenta ação deterrente contra os insetos, causando parada de alimentação após a sua ingestão. Exerce melhor controle de lagartas desfolhadoras, como a da maçã *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae), além daquelas encontradas no repolho, do cartucho-do-milho, além de combater uma variedade de insetos como tripses em plantas de citros e cebola, besouros (vaquinhas), percevejos, mosca-branca e pulgão; entretanto, não exibe toxicidade contra ácaros (BUSS; PARK-BROWN, 2002; KATHRINA; ANTONIO, 2004; WIESBROOK, 2004). A rianodina age lentamente, mas é altamente efetiva contra insetos, mesmo quando a praga aparenta não ter sido imediatamente afetada. A alimentação, o movimento e a reprodução dos insetos cessam gradualmente após o contato com essa substância. Marcas comerciais incluem Ryan 50, Ryaniadust, Triple Plus e Veratran D (JACOBSON, 1975).

*R. speciosa* pode ser usada nas formas de pó ou extrato para fabricação de seus produtos a serem comercializados. O pó é solúvel em água, álcool, clorofórmio, acetona, e demais. Após algumas extrações em um solvente, a rianodina se torna muito estável, sendo

700 vezes mais efetiva do que o material da primeira extração a partir da planta original. Raízes, folhas e ramos são secos e finalmente moídos, seguido de mistura em um ingrediente inerte, como talco ou barro. O extrato de rianodina consiste na mistura de 30 a 40 g do pó de *R. speciosa* (talos e raízes) entre sete e oito litros de água. Posteriormente, o produto resultante deve ser dissolvido e, em seguida aplicado em hortas a cada 10 ou 14 dias (JACOBSON, 1975; STROLL, 1986).

### Astilbina

*Dimorphandra mollis* Benth. (Fabaceae) é uma planta comumente encontrada no Cerrado brasileiro, com ocorrência nos estados do Pará, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Minas Gerais e São Paulo, e sem referências de ocorrência em outras partes do mundo (LORENZI, 1992). É conhecida popularmente em várias regiões brasileiras como faveira, faveiro-do-Cerrado, fava d'anta, favela, farinheiro, falso-barbatimão, barbatimão de folha miúda, canafistula, enche-cangalha, angiquinho, entre outros (LORENZI, 1992).

É uma espécie arbórea decídua, heliófita e pioneira, de 8 a 14 metros de altura. Possui folhas alternas, bicompostas, paripinadas, com 6-19 folíolos de 10-12 mm de comprimento e com inflorescências (com cerca de 500 flores) em espigas terminais com flores hermafroditas de cinco pétalas livres, cinco estames, ovário súpero, unilocular e com muitos óvulos, estas as são características dessa espécie (ALMEIDA et al., 1998; LORENZI, 1992). O fruto, que são vagens semidescentes, achatadas, de coloração marrom e medindo até 15 cm de comprimento, é utilizado popularmente para tratamento de úlceras por sua propriedade antiinflamatória e cicatrizante (FERREIRA et al., 2001a).

A composição química das cascas e do pericarpo dos frutos apresenta basicamente glicosídeos flavônicos como ramnose, iso-

quercetina, quercetina e, especialmente, rutina (quercetina-3-rutinosídeo) por encontrar-se em maior quantidade: entre seis e 10% (GOMES; GOMES, 2000). A rutina diminui a permeabilidade dos glóbulos vermelhos e protege a vitamina C contra oxidação, sendo comumente empregada como anti-hemorrágica (SOUSA et al., 1991), além de despontar como uma das substâncias mais promissoras no combate ao envelhecimento precoce e às doenças degenerativas, principalmente se considerarmos o aumento contínuo da população idosa (GONÇALVES et al., 2010).

*D. mollis* é considerada uma planta de múltiplos usos, podendo também ser utilizada em programas de reflorestamento de áreas degradadas e de preservação permanente (LORENZI, 1992). Sua madeira, que leva de seis a sete anos para atingir 14 metros - sua altura máxima - pode ser utilizada para tabuado, confecção de caixas, compensados, forros, painéis, brinquedos, lenha e carvão, e a casca é rica em tanino, bastante utilizado para curtir couro (BRANDÃO, 1992; LORENZI, 1992).

O extrato metanólico das flores de *D. mollis* apresentou atividade tóxica frente à abelha comum *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) (CINTRA et al., 2002). Deste extrato foi isolado o flavonoide glicosilado astilbina, o qual apresentou atividade inseticida frente a *A. mellifera* (CINTRA et al., 2005a), a formiga *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) (CINTRA et al., 2005b), a lagarta-da-soja *Anticarsia gemmatalis* e a lagarta-do-cartucho-do-milho, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) (PETACCI et al., 2002). Estes três últimos insetos são considerados importantes pragas agrícolas no Brasil (GALLO et al., 2002), o que caracteriza que a atividade tóxica da astilbina observada frente a insetos-praga possibilita visualizar o desenvolvimento de uma promissora molécula inseticida.

A coleta de muitas estruturas dessa planta ainda é realizada de forma predatória e sua cadeia produtiva não aparenta estar devidamente organizada. Ainda há grande desperdício na extração de rutina, por exemplo, oriunda das cascas das suas vagens. Para extração desse flavonoide, cerca de 600 t/ano de sementes são descartadas, sendo que tais estruturas poderiam fornecer até 160 t/ano de galactomanana como subproduto (CUNHA et al., 2008). Essa biomolécula é bastante solicitada pelas indústrias farmacêuticas, petrolíferas, de cosméticos e alimentos em razão da sua propriedade formar soluções viscosas a baixas concentrações e, portanto, com potencial de substituir polissacarídeos importados. Segundo Panegassi et al. (2000), por causa de seu efeito espessante, estabilizante e geleificante (e do teor de galactomanano), há grande potencial para exploração de gomas das sementes pela indústria de alimentos para melhoria das propriedades dos produtos.

Todavia, a matéria prima fornecida por essa planta ainda é extraída do seu habitat natural de forma desordenada, não havendo o cuidado com a reprodução da espécie (LIMA, 1997). Com isso, as populações naturais de *D. mollis* correm risco eminente de serem extintas localmente, pois a falta de manejo conduz à redução no número de indivíduos em função da ausência de critérios para colheita das favas e outras estruturas fornecedoras de quimioativos. Segundo Felfili et al. (2004) os coletores de frutos de *D. mollis* derrubam as árvores para reduzir o tempo e agilizar o trabalho de coleta dessas estruturas, mesmo conscientes de que receberão pagamento, apenas, pela quantidade de frutos coletados.

O gênero *Dimorphandra* possui nove espécies, sendo que dentre elas, a espécie *Dimorphandra wilsonii*, que possui potencialidades similares, é considerada rara desde quando sua descrição foi realizada em 1969.

Diversos estudos têm elucidado aspectos a respeito das propriedades fitotécnicas, parâmetros de história de vida, manejo sustentável e características químicas de *D. mollis* como respostas à adubação e sua nutrição mineral (COSTA et al., 2007a, 2007b), fenologia (LORENZI, 2002), germinação (OLIVEIRA et al., 2008a; PACHECO et al., 2010; SCALON et al., 2007), taxonomia (FERREIRA et al., 2001a), variabilidade genética (OLIVEIRA et al., 2008b; SOUZA; LOVATO, 2010), toxicidade (FÉRES et al., 2006; MELLO et al., 2011; RIZZINI; MORS, 1976), ecogeografia (SOUZA et al., 2008), aspectos químicos (HUBINGER et al., 2010; LUCCI; MAZZAFERRA, 2009; PETACCI et al., 2010) e estratégias de conservação (GONÇALVES et al., 2010). Dessa forma, todo esse conhecimento gerado torna-se importante ferramenta para auxiliar atividades de exploração racional dessa espécie e fornecem informações sobre sua multiplicação e manutenção de forma mais adequada e sustentável.

### Outras substâncias inseticidas

Outras substâncias inseticidas incluem a piperina e os quassinoides. A piperina é um alcaloide extraído das pimentas da família Piperaceae. A eclosão de lagartas de *S. frugiperda* foi, respectivamente, de 11,2% e 12,5% quando ovos recém-depositados desse lepidóptero foram tratados com solução a 1% e 2% de piperina extraída das sementes de *Piper nigrum*; de 63,7% e 23,7% em ovos de um dia de idade, e de 75% e 20% em ovos de dois dias de idade. Para *D. saccharalis*, a eclosão de lagartas a partir de ovos recém depositados tratados com essa mesma solução foi de 1% e 0%; de 3,1% e 0% para ovos de um dia de idade, e de ovos de dois dias de idade dessa praga, a porcentagem de eclosão foi de 7% e 0%,

respectivamente, sugerindo maior efeito dos extratos dessa planta sobre os ovos dessa última praga (TAVARES et al., 2011).

Os quassinoides são alcaloides extraídos de *Quassia amara* L. (Simaroubaceae). Essas substâncias são usadas no preparo de extratos inseticidas (DAIDO et al., 1993; EVANS; RAJ, 1991; VILLALOBOS et al., 1999). Quassin e neo-quassin são as substâncias de maior atividade inseticida dessa planta. A maior concentração de quassin é encontrada na madeira de *Q. amara*, mas pequenos teores são extraídos de suas raízes e folhas (STROLL, 1986). Pulgões, mosquitos, ácaros e imaturos de *P. xylostella*, *L. decemlineata* e *D. hyalinata* foram afetados por essas substâncias, mas as pragas *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae), *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) e *Epilachna varivestis* (Coleoptera: Coccinellidae) não foram afetadas (EVANS; RAJ, 1991; STROLL, 1986). Quassin inibe a atividade da tyrosinase em larvas de *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae), sendo que essa enzima está envolvida na esclerotização da cutícula desses insetos. Esses mosquitos são os vetores primários e principais da filariose bancroftiana e vetor secundário do vírus Oropouche e agente vetor da febre do Nilo Ocidental (EVANS; KALEYSA, 1992).

Os quassinoides apresentam potencial ação de contato e ingestão em insetos. Além disso, apresentam ação sistêmica quando os extratos são preparados a partir das raízes, sendo os princípios ativos transportados até as folhas, onde agem como veneno estomacal contra os insetos, especialmente os sugadores. Esses alcaloides são altamente solúveis em água e, por ter ação sistêmica, podem ser usados como extratos aquosos aplicados no solo (ROARK, 1947; STROLL, 1986). Joaninhas predadoras e abelhas não são afetadas pelos extratos de *Q. amara* (ROARK, 1947).

## Etapa laboratorial

A seguir, destacaremos os principais processos que envolvem as atividades de aquisição e manipulação de plantas para estudos laboratoriais, desde a etapa inicial de coleta de material vegetal até a elucidação estrutural de quimiotipos, com ênfase na extração de astilbina de flores de *D. mollis*. O objetivo desta etapa é ajudar o leitor a compreender os princípios que envolvem a pesquisa de compostos ativos em plantas do Cerrado que possam ser efetivos no controle de pragas.

Micromoléculas orgânicas denominadas metabólitos secundários são encontradas em muitos seres vivos, como microrganismos (fungos, bactérias, leveduras, e outros), organismos marinhos, insetos e, também, em plantas do Cerrado. As macromoléculas orgânicas (polissacarídeos, proteínas, ácidos nucleicos e lipídeos) produzidas pelo metabolismo primário das plantas são constituintes fundamentais para a sua sobrevivência (Figura 4) (MATOS, 2009). No entanto, os metabólitos secundários compreendem uma ampla faixa de diferentes compostos químicos, os quais muitas vezes são específicos de uma espécie em particular e não são estritamente essenciais para a sua sobrevivência. Muitos destes compostos podem apresentar algum tipo de atividade biológica (FERREIRA et al., 2001b; HOSTETTMAN et al., 2003), o que os torna extremamente úteis em diversos campos de pesquisa como, por exemplo, no descobrimento de fármacos, pesticidas, entre outros.

## Método

As estratégias para a prospecção preliminar de princípios ativos podem variar de acordo com os objetivos escolhidos. Alguns exemplos são a busca por substâncias inéditas ativas, o isolamento de

substâncias conhecidas, as quais apresentem interesse econômico, e a procura de novas fontes de substâncias conhecidas bioativas.

Atualmente, a pesquisa em produtos naturais está mais direcionada para o isolamento de substâncias alvo ao invés de isolar todos os compostos presentes em um extrato (KOUL; WALIA, 2009). Assim, uma estratégia útil na descoberta de compostos bioativos nas plantas pertencentes ao Cerrado é a realização de testes – bioensaios – com um grande número de extratos ou compostos puros para determinar se eles produzem um efeito bioquímico ou celular. Em princípio, um bioensaio é qualquer sistema *in vitro* ou *in vivo* utilizado para detectar a atividade biológica de um extrato ou de uma substância pura (COLEGATE; MOLYNEUX, 2008; CSEKE et al., 2006). A aplicação destes ensaios para monitorar a presença de um composto bioativo durante o processo de isolamento é denominado fracionamento bioguiado. Portanto, os extratos brutos obtidos das diferentes partes da planta são testados para uma atividade biológica alvo. Os extratos que apresentarem teste positivo são fracionados e estas frações são novamente testadas. Este processo se repete até a obtenção do componente bioativo em sua forma pura (COLEGATE; MOLYNEUX, 2008; SARKER et al., 2006). Neste processo de isolamento da substância ativa são utilizadas técnicas de separação denominadas de técnicas cromatográficas. Na etapa posterior, onde é realizada a elucidação da estrutura da substância são utilizadas técnicas denominadas de espectrométricas.

De modo geral, a busca de novos compostos envolve as etapas de seleção, coleta e identificação da planta, preparo do material vegetal, métodos de extração, fracionamento, isolamento e caracterização estrutural das substâncias bioativas presentes nos extratos brutos.

- **Seleção e coleta do material vegetal**

O processo de escolha do material vegetal pode ser realizado de diferentes maneiras, considerando-se, principalmente, os objetivos específicos do trabalho e as técnicas de coleta disponíveis ao pesquisador. Os principais métodos de seleção empregados são: informações quimiotaxonômicas (informações a respeito dos metabólitos secundários produzidos por uma determinada família ou gênero botânico), informações etnobotânicas (informações do uso popular da planta) e *screening* aleatório (coleta de espécies de forma aleatória, sem critérios pré-estabelecidos) (COLEGATE; MOLYNEUX, 2008; MATOS, 2009).

O levantamento preliminar da vegetação e composição florística da região do Cerrado auxilia o pesquisador a descobrir as espécies que são predominantes e que poderão ser alvo de estudo químico, visando exploração econômica e sustentável destas plantas.

Uma etapa fundamental do estudo de uma planta envolve a identificação botânica, que é um trabalho realizado por um especialista em taxonomia vegetal (botânico). Após a coleta a planta é herbORIZADA e depositada em um herbário. Neste processo esta será devidamente numerada e catalogada para garantir a origem inequívoca das substâncias isoladas. É importante ressaltar que, na falta de identificação da planta, todo o trabalho realizado e os resultados obtidos não terão nenhum valor científico.

Desta forma, a coleta da planta deve fornecer material para identificação botânica (pequenos ramos com folhas, flores e frutos em diferentes estágios de desenvolvimento) e material para a realização do estudo químico. Durante a coleta do material destinado a estudo químico é importante que sejam feitas anotações precisas como o nome vulgar da planta, parte da planta coletada, local da coleta com coordenadas GPS, município, data, entre outros. A quantidade

de material coletado deve ser suficiente para que todo o estudo químico e/ou biológico seja realizado, podendo variar de gramas a quilogramas de acordo com os objetivos do trabalho.

- **Preparo do material vegetal**

Quando o estudo da planta envolver substâncias voláteis ou termolábeis (normalmente óleos essenciais) é aconselhável que o material coletado seja armazenado a baixas temperaturas imediatamente após a coleta. Quando o material coletado for folhas, flores e frutos e o intervalo entre a coleta e o preparo do extrato for superior a um dia, deve-se manter refrigerado (temperatura menor que 10 °C) ou submeter a secagem imediata para evitar a deterioração por fermentação biológica e consequente degradação dos metabólitos (COLEGATE; MOLYNEUX, 2008). As partes vegetais mais resistentes (cascas, lenho, sementes) podem ser cortadas em pedaços pequenos e secadas em ambiente arejado e à sombra durante alguns dias. Deve-se evitar a secagem ao sol para minimizar as reações químicas induzidas por radiação ultravioleta (COLEGATE; MOLYNEUX, 2008).

Para acelerar o processo de secagem, o material pode ser secado em estufa com circulação de ar. Este procedimento minimiza as reações enzimáticas (hidrólise de glicosídeos, por exemplo) que ocorrem com o tempo. Após a secagem o material vegetal deve ser armazenado em local seco e fresco ou deve seguir para o processo de trituração ou moagem (moinho mecânico). Nesta etapa, ocorre a ruptura de estrutura bruta do material, de forma que o torna mais homogêneo e com maior área superficial, permitindo uma melhor penetração do solvente e, conseqüentemente, uma maior eficiência na etapa seguinte de extração.

### 6.1.3 Extração

Todo o trabalho de estudo químico de uma planta inicia-se com a obtenção de um extrato. A escolha do processo de extração depende do tipo de material vegetal (semente, folha, caule ou flores), da quantidade de material disponível e dos compostos a serem isolados.

As plantas são matrizes bastante complexas, constituídas por uma grande variedade de metabólitos secundários como ceras, ácidos graxos, poliacetilenos, terpenoides, esteroides, óleos essenciais, compostos fenólicos (fenilpropanoides, flavonoides, taninos, antocianinas, quinonas, cumarinas), alcaloides e derivados glicosídicos (saponinas, flavonoides glicosilados) (CSEKE et al., 2006; SARKER et al., 2006). O processo mais utilizado para a extração de metabólitos secundários é a extração por solvente, no qual se utilizam solventes orgânicos de diferentes polaridades para solubilizar os metabólitos de interesse. Neste processo, o solvente difunde para dentro das células e dissolve os metabólitos, enriquecendo o extrato. Diferentes métodos podem ser utilizados para a extração com solvente, sendo os mais comuns: infusão, decocção, maceração, percolação, extração com soxhlet, arraste a vapor, entre outros.

O método ideal para a extração deve ser exaustivo (retirar o máximo possível de metabólitos), rápido, simples e reprodutível. A seleção do método mais adequado para a extração dependerá das condições disponíveis para o trabalho laboratorial.

Um processo simples e bastante utilizado nos laboratórios para a obtenção do extrato bruto é a maceração a frio. Este processo consiste em deixar o material moído em contato com o solvente de extração em um recipiente fechado, à temperatura ambiente, por um período que pode variar de um a sete dias, sendo o processo repetido no mínimo três vezes. Após a extração o resíduo da planta é

separado do solvente por filtração simples. Em seguida o solvente é evaporado por destilação à pressão reduzida, obtendo-se, desta forma, o extrato bruto. A desvantagem da maceração é a quantidade elevada de solvente e o tempo gasto no processo.

É importante que os solventes utilizados na extração sejam puros e pouco reativos para evitar a formação de compostos indesejáveis ou adição de impurezas ao extrato. Outras características necessárias são a baixa toxicidade, inflamabilidade e risco de explosão, baixo custo e facilidade de reciclagem por evaporação. Estas características tornam-se particularmente importantes quando existe a necessidade de obtenção de grandes volumes de extrato bruto. Os principais solventes utilizados para extração incluem os hidrocarbonetos alifáticos e clorados, ésteres e alcoóis (Tabela 11).

**Tabela 11.** Propriedades físicas de solventes para extração.

Solvente	Força do solvente	Solubilidade em água (% m/m)
N-hexano	0,0	0,001
Diclorometano	3,1	1,6
N-butanol	3,9	7,81
Iso-propanol	3,9	100
N-propanol	4,0	100
Clorofórmio	4,1	0,815
Acetato de etila	4,4	8,7
Acetona	5,1	100
Metanol	5,1	100
Etanol	5,2	100
Água	9,0	100

Fonte: Sadek (2003).

As extrações podem ser seletivas ou totais. A escolha inicial do solvente mais adequado baseia-se na sua seletividade para as substâncias que serão extraídas. Em uma extração seletiva o princípio “semelhante dissolve semelhante” é utilizado. Assim, solventes apolares são empregados para solubilizar a maioria dos compostos lipofílicos (alcanos, ácidos graxos, pigmentos, ceras, esteroides, alguns terpenoides, alcaloides e cumarinas). Solventes de polaridade intermediária são usados para extrair compostos de média polaridade, como alguns alcaloides e flavonoides, enquanto que solventes mais polares são utilizados para a extração de compostos polares como flavonoides glicosilados, alcaloides quaternários e taninos. Uma extração seletiva também pode ser feita sequencialmente com solventes de polaridade crescente. A vantagem deste procedimento é permitir uma separação preliminar dos metabólitos presentes no material em extratos separados e simplificar o procedimento adicional de isolamento.

Em uma extração total, um solvente orgânico polar, normalmente etanol, metanol ou uma mistura destes com água (hidroalcoólica) é empregado na tentativa de extrair a maior quantidade possível de compostos. Isto é possível devido à habilidade que os solventes alcoólicos possuem de aumentar a permeabilidade da parede celular, aumentando a eficiência da extração. Nesta técnica são extraídos desde substâncias polares e de média polaridade até os constituintes de baixa polaridade. Após a extração, o solvente é evaporado sob pressão reduzida e gera o extrato bruto.

#### • Isolamento e purificação

Os extratos brutos que apresentam atividade biológica são submetidos a um fracionamento com o objetivo de isolar e purificar as substâncias responsáveis pela atividade observada (COLEGATE; MOLYNEUX, 2008; SARKER et al., 2006). Dentre os vários méto-

dos disponíveis, destacam-se os métodos cromatográficos clássicos (cromatografia por partição líquido-líquido, cromatografia em camada delgada ou cromatografia em coluna de vidro).

Na rotina de um laboratório de fitoquímica, os extratos e frações ativas são submetidos a uma análise da composição por cromatografia em camada delgada. Esta análise tem como intuito obter o melhor sistema de eluição para ser utilizado na separação dos componentes em cromatografia em coluna. A partir da obtenção do melhor sistema de eluição, o extrato ou fração ativa é submetido à cromatografia (preparativa ou semipreparativa) em coluna de vidro, obtendo-se várias subfrações, as quais são novamente avaliadas por cromatografia em camada delgada a fim de verificar sua semelhança e pureza. As subfrações semelhantes são agregadas e, caso estejam impuras, serão novamente submetidas à cromatografia em coluna de vidro até a purificação. Caso estejam puras, passarão para a etapa de identificação. Etapas adicionais de purificação podem ser necessárias como, por exemplo, a utilização da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

#### • **Elucidação estrutural**

A última etapa do processo de isolamento de uma substância bioativa é a identificação ou a elucidação estrutural. Esta é uma etapa que consome bastante tempo. Existem diversos métodos espectroscópicos úteis que fornecem informações sobre as estruturas químicas. No entanto, a interpretação destes espectros necessita de especialistas com um amplo conhecimento das técnicas espectrométricas e experiência em química de produtos naturais. As seguintes técnicas espectrométricas são utilizadas para a determinação estrutural de compostos (SILVERSTEIN; WEBSTER, 1998):

- Espectroscopia na Região do Infravermelho (IV): indica a presença ou ausência de diferentes grupos funcionais na molécula, por exemplo: -C=O, -OH, -NH<sub>2</sub>, -C=C-, anel aromático;
- Espectrometria de Massa (EM): fornece informação sobre a massa molar, fórmula molecular e informações estruturais a partir do padrão de fragmentação. As técnicas mais comumente utilizadas são: impacto eletrônico (EM-IE), ionização química (EM-IQ), e eletrospray (EM-ESI);
- Ressonância Magnética Nuclear (RMN): fornece informações sobre o número e tipos de hidrogênios e carbonos presentes na molécula e a relação entre estes átomos. Os experimentos utilizados atualmente em RMN podem ser classificados em duas categorias principais: técnicas unidimensionais (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, dept, pendant, entre outras) e técnicas bidimensionais (COSY, DQF-COSY, HMBC, e HSQC).

Além das técnicas mencionadas, uma ferramenta muito poderosa na determinação da estrutura de uma substância orgânica é a cristalografia por difração de raios X, a qual permite determinar a estrutura cristalina da molécula (SARKER et al., 2006).

### **Estudo de caso: astilbina – substância inseticida presente nas flores de *D. mollis***

A metodologia utilizada para o isolamento e caracterização deste flavonoide com atividade inseticida, obtido a partir do extrato metanólico das flores de *D. mollis* é descrito a seguir (PETACCI, 2001).

#### **• Escolha e coleta do material vegetal**

A escolha de *D. mollis* para o estudo de atividade inseticida baseou-se em informações etnobotânicas. Nas colmeias dos laranjais do

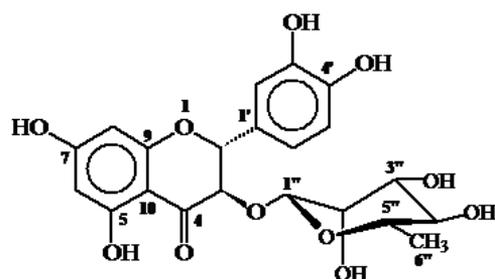
interior paulista, a observação de que durante a floração de *D. mollis* havia um aumento elevado na taxa de mortalidade de abelhas na fase larval, levando a morte da colmeia, motivou a escolha da planta. As flores foram coletadas e secadas à sombra.

#### • Preparação dos extratos de *D. mollis*

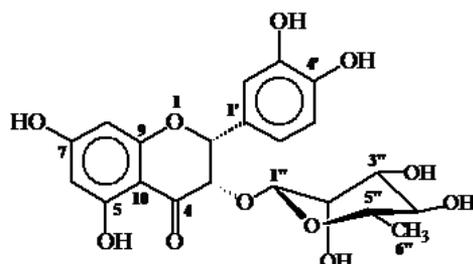
Os extratos foram preparados a partir de 450 g de flores de *D. mollis*, utilizando como solventes de extração diclorometano e metanol. Foram feitas três extrações com diclorometano e duas com metanol. Após a evaporação do solvente à pressão reduzida, o extrato metanólico obtido apresentou um aspecto bastante característico, sendo formado por cristais de forma arredondada. Os extratos diclorometânico e metanólico foram submetidos a ensaio biológico de toxicidade sobre abelhas e somente o extrato metanólico se mostrou tóxico (CINTRA et al., 2002).

#### • Isolamento e caracterização da astilbina

O extrato metanólico foi fracionado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). As condições de análise foram: coluna polimérica ASAHIPAC 310s (2,15 cm DI X 50 cm comprimento); fluxo 7 ml/min.; detector UV  $\lambda = 290$  nm; volume da injeção 2,00 ml; eluente metanol 100% e concentração da amostra de 50 mg/ml. Nestas condições foram isolados dois sólidos amarelos, sendo o primeiro com 95% e segundo com 5% da concentração do extrato, respectivamente (PETACCI, 2001). Estes foram identificados, posteriormente, como sendo os flavonoides astilbina (3- $\beta$ -O-rhamnosideo de 5,7,3',4'-tetrahidroxi-2,3-diidroflavonol) [Figura 5 (a)] e seu diastereoisômero neoastilbina [Figura 5 (b)].



(a)



(b)

**Figura 5.** Estrutura química da astilbina (a) e da neoastilbina (b).

A identificação estrutural dos compostos astilbina (95% do extrato) e neoastilbina (5% do extrato) foi realizada pela análise dos espectros de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e PENDANT (Figuras 6 a 9).

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  do sólido majoritário apresentou sinais de hidrogênios ligados a anéis aromáticos entre  $\delta_{\text{H}}$  6,85 e 5,78 (5H) característicos de compostos flavonoídicos e sinais de açúcares na região entre  $\delta_{\text{H}}$  4,50 e 3,00 (5H) e em  $\delta$  0,83 (3H). Nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -PENDANT verificou-se a presença do sinal de carbonila de cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada em  $\delta_{\text{C}}$  195,9; de cinco sinais de carbonos aromáticos oxigenados entre  $\delta_{\text{C}}$  169,0 e 146,0; de sete

sinais entre  $\delta_c$  131,8 e 102,0 de carbonos aromáticos não oxigenados e os sinais em  $\delta_c$  78,6 e 84,0 completando o esqueleto típico de diidroflavonois. O sinal em  $\delta_c$  17,8 e o conjunto de sinais em  $\delta$  102,1; 71,7; 70,4; 70,1 e 69,0 confirmaram a presença da unidade monosídica ramnose. Estes dados estão de acordo com a estrutura do diidroflavonol glicosilado astilbina. A confirmação da estrutura foi realizada pela comparação dos sinais de RMN  $^{13}\text{C}$  deste sólido com os sinais da astilbina encontrados na literatura (BRITO et al., 1995) (Tabela 12).

**Tabela 12.** Dados de RMN  $^{13}\text{C}$  da astilbina e neoastilbina ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 50 MHz) comparados com os da literatura ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 125 MHz).

Carbono	astilbina ( <i>D. mollis</i> ) $\delta$	astilbina $\delta$	neoastilbina ( <i>D. mollis</i> ) $\delta$	neoastilbina $\delta$
2	84,0	84,8	82,0	82,1
3	78,6	79,4	76,9	76,9
4	196,0	196,7	194,1	194,3
5	165,5	166,3	166,2	166,5
6	97,7	98,2	97,6	97,3
7	168,6	169,7	169,8	169,0
8	96,3	97,2	96,5	96,1
9	164,1	164,9	164,5	164,5
10	102,1	103,2	101,6	101,8
1'	129,2	130,0	128,6	128,8
2'	116,3	117,1	116,3	116,3
3'	146,5	147,3	146,5	146,4
4'	147,4	148,1	146,6	146,7
5'	115,5	116,3	115,3	115,3
6'	120,5	121,3	119,4	119,4

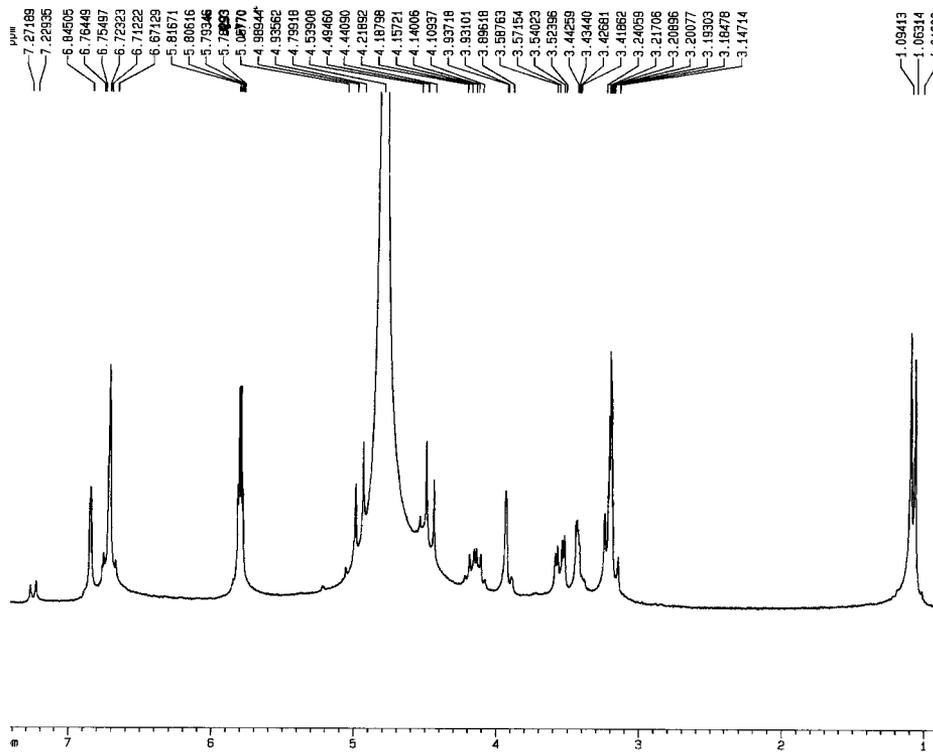
Continua...

**Tabela 12.** Dados de RMN  $^{13}\text{C}$  da astilbina e neoastilbina ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 50 MHz) comparados com os da literatura ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 125 MHz).

Carbono	astilbina	astilbina	neoastilbina	neoastilbina
	( <i>D. mollis</i> )		( <i>D. mollis</i> )	
	$\delta$	$\delta$	$\delta$	$\delta$
1"	102,1	102,9	102,0	102,9
2"	71,8	72,6	72,0	72,0
3"	72,2	72,9	72,0	72,1
4"	73,8	74,6	73,4	73,4
5"	70,5	71,3	70,4	70,3
6"	17,8	18,6	17,8	17,8

Fonte: Brito et al. (1995).

Os dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  da astilbina e neoastilbina são muito semelhantes. A principal diferença no espectro de RMN  $^1\text{H}$  está na constante de acoplamento entre os hidrogênios H-2 e H-3, sendo na astilbina  $\delta_{\text{H}}$  5,2 (d,  $J=10$  Hz, H-2) e 4,6 (d,  $J=10$  Hz, H-3), enquanto para a neoastilbina  $\delta_{\text{H}}$  5,5- (d,  $J=2,5$  Hz, H-2) e 4,20 (d,  $J=2,5$  Hz, H-3). A Tabela 12 mostra a comparação dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$  da neoastilbina isolada de *D. mollis* e da literatura (BRITO et al., 1995), confirmando a estrutura deste diastereoisômero natural da astilbina.



**Figura 6.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da astilbina ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 200 MHz).

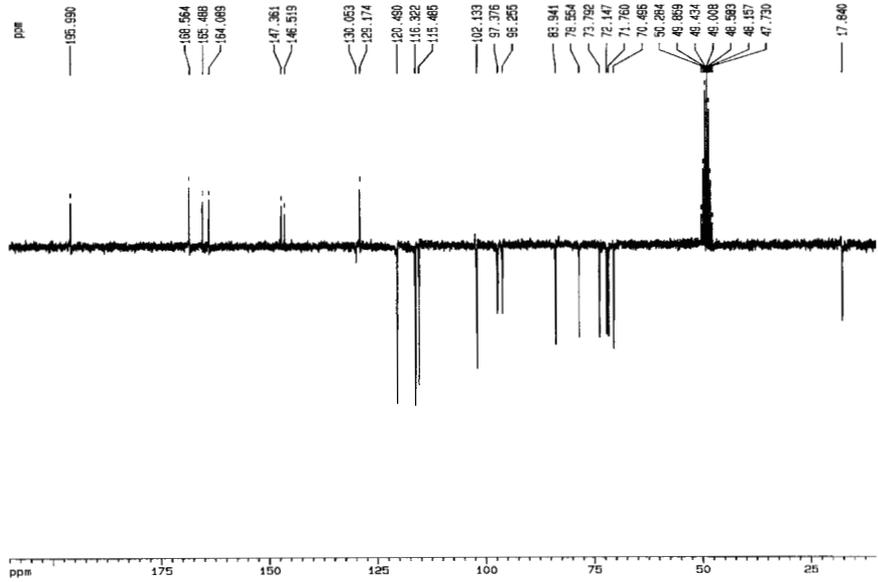


Figura 7. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  Pendant da astilbina ( $\text{CD}_4\text{O}$ , 50 MHz).

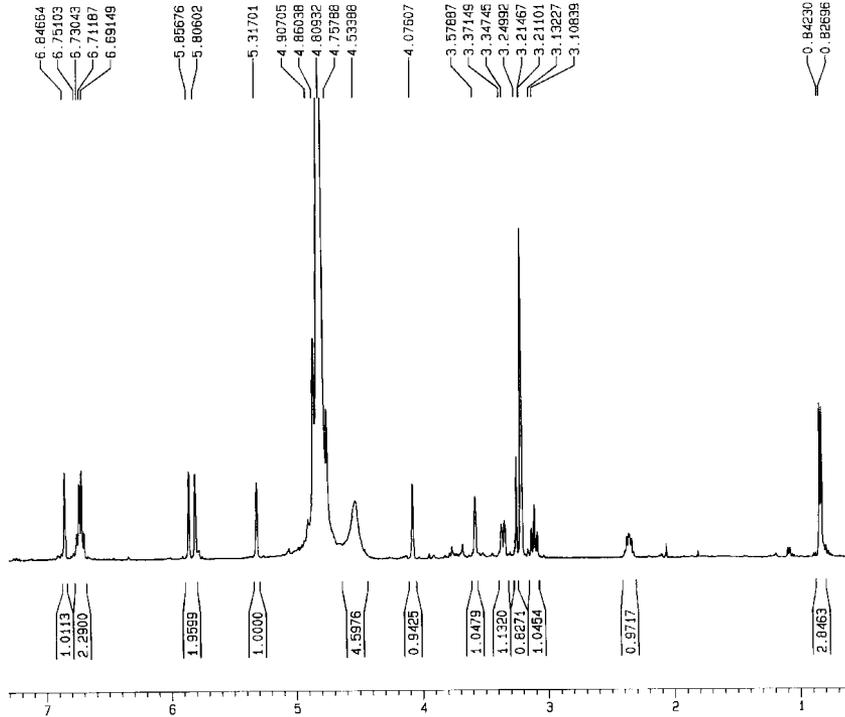
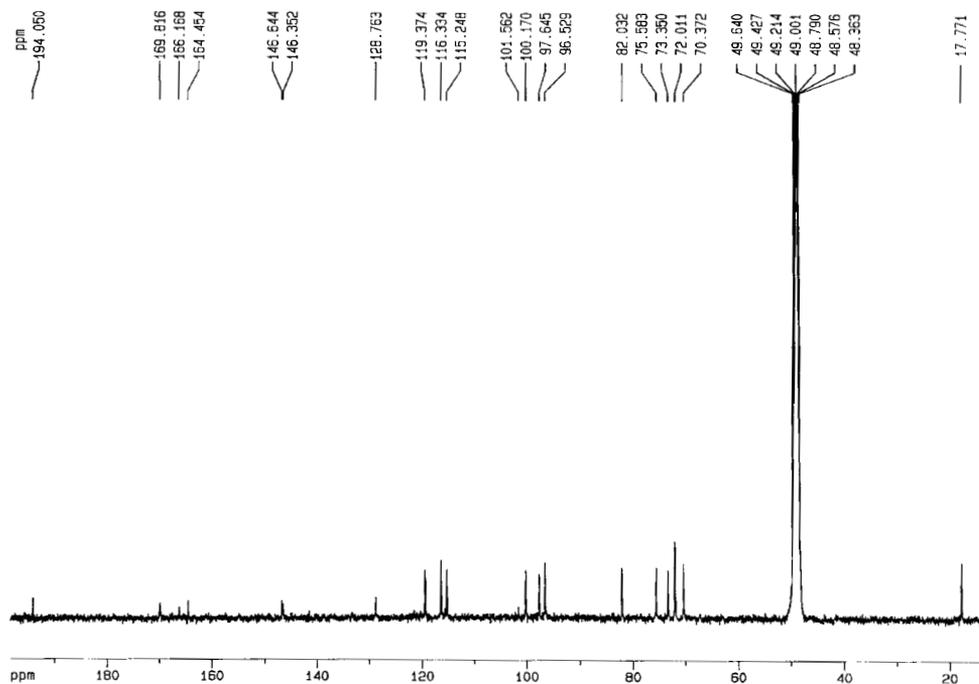


Figura 8. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da neoastilbina ( $\text{CD}_4\text{O}$ , 200 MHz).



**Figura 9.** Espectro de RMN <sup>13</sup>C da neoisoastilbina (CD<sub>4</sub>O, 50 MHz).

## Considerações Finais

Este capítulo pretendeu aproximar dois temas, aparentemente desconexos, com a finalidade de elucidar argumentos sobre medidas para utilização sustentável dos recursos da biodiversidade: Inseticidas Botânicos Naturais (IBN's) e a conservação do bioma Cerrado.

Isoladamente, cada um é importante quando nos referimos a questões ambientais. Os IBN's são uma promissora medida alternativa que se opõe aos produtos orgânicos sintéticos, veiculados e utilizados por décadas, quando se trata de supressão de pragas na agricultura e ambientes domissanitários. Vantagens ambientais, sociais e técnicas dos IBN's foram apresentadas quando o seu uso é considerado, além de alguns casos de sucesso citados. O bioma

Cerrado, segundo maior em extensão e terceiro maior em biodiversidade do Brasil, é o mais biodiverso entre as savanas do planeta, com características ecológicas e edafoclimáticas peculiares. Abriga rica diversidade sócio-cultural e vegetal e implora por atividades de conservação devido ao uso insustentável de seus recursos em decorrência do processo de interiorização da capital nacional, o que gerou expansão habitacional, industrialização e grande expansão do agronegócio brasileiro.

Essas duas temáticas possuem potencial em atuar de forma intensamente sinérgica, principalmente quando consideramos seus efeitos. Questões relacionadas a medidas que diminuam atividades de biopirataria; valorização do conhecimento tradicional associado e desenvolvimento social de comunidades culturalmente e historicamente marginalizadas pela sociedade contemporânea; estabelecimento de parcerias técnico-científicas entre instituições de pesquisa e ensino dentro e fora do Brasil, além do fomento de massa crítica com o intuito de discutir questões éticas relacionadas ao avanço da biotecnologia seriam algumas dessas dimensões de atuação quando os dois principais temas do capítulo são considerados de forma e maneira entrelaçada.

Todavia, há ainda um longo caminho para que ambas temáticas abordadas cumpram com objetivos galgados em questões ambientalmente qualitativas. Aspectos jurídicos reconhecidamente impedem o uso diversificado e em larga escala de IBN's, tanto no Brasil como fora dele, enquanto que a forma atual pela qual se explora os recursos florísticos para essa finalidade (prospecção de plantas inseticidas) não possui caráter sustentável. No meio desses dois dilemas (porém, notadamente não únicos) surge como importante modelo a faveira, *Dimorphandra mollis*, uma leguminosa nativa do Cerrado com características peculiares e que detém, com muita precisão, todas (ou a maioria) das características ideais de vegetais com potencial para fornecer moléculas inseticidas.

O amplo conhecimento a cerca dos aspectos fitotécnicos como germinação, sazonalidade e respostas à adubação; o conhecimento sobre o uso amplificado de suas propriedades; o fato de ainda não ser considerada com eminente risco de extinção (ao contrário da sua parenta próxima, a *Dimorphandra wilsonii*); a sua relativa ampla distribuição ao longo do bioma Cerrado; o conhecimento recente sobre a síntese laboratorial de seus quimioativos a partir de materiais coletados *in situ* e a eficiência química dos seus flavonoides contra insetos posicionam essa planta como uma das mais promissoras dentro da temática de unir o uso de IBN's e a conservação do bioma Cerrado com intuito de gerar sinergia e robustez metodológica e prática pertinentes a essas duas temáticas.

Apontamos um modelo interessante de exploração vegetal baseado em atividades que promovam sua própria sustentabilidade, gerando desenvolvimento socioeconômico das áreas detentoras de reconhecido grau de biodiversidade, além de incentivar, como medida alternativa, o uso dos recursos naturais com valor agregado por populações que dela dependem ou convivem. Esse tipo de abordagem precisa, sobretudo, ser amplificada para outras espécies vegetais devido ao pouco conhecimento que detemos das potencialidades da flora desse importante bioma brasileiro para auxiliar na solução de problemas atuais.

## Referências

ADÂMOLI, J.; MACEDO, J.; AZEVEDO, L. G.; MADEIRA NETTO, J. Caracterização da região dos cerrados. In: GOEDERT, W. J. (Ed.). **Solos dos cerrados**: tecnologias e estratégias de manejo. Planaltina: Embrapa-CPAC; São Paulo: Nobel, 1987. p. 33-98.

AKHTAR, Y.; YEOUNG, Y. R.; ISMAN, M. B. Comparative bioactivity of selected extracts from Meliaceae and some commercial botanical insecticides against two noctuid caterpillars, *Trichoplusia ni* and *Pseudaletia unipuncta*. **Phytochemistry Reviews**, Dordrecht, v. 7, n. 1, p. 77-88, 2008.

ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1998. 464 p.

AMBROSE, A. M.; HAAG, H. B. Toxicological study of *Derris*. **Industrial and Engineering Chemistry**, Washington, DC, v. 28, n. 7, p. 815-821, 1936.

ARRUDA, M. B. **Representatividade ecológica com base na biogeografia de biomas e ecorregiões continentais do Brasil: o caso do bioma Cerrado**. 2004. 194 f. Tese (Doutorado em Ecologia) - Universidade Federal de Brasília, Brasília, DF.

AZEVEDO, C. M. A. **Bioprospecção: coleta de materiais biológicos com a finalidade de explorar os recursos genéticos**. São Paulo: Conselho Nacional da Reserva da Mata Atlântica, 2003. (Série Cadernos da Reserva da Biofera da Mata Atlântica, n. 17).

AZIZUDDIN; CHOUDHARY, M. I. Antibacterial, phytotoxic, insecticidal and cytotoxic potential of *Vitex agnus-castus*. **Journal of Medicinal Plants Research**, [S.l.], v. 5, n. 23, p. 5642-5645, 2011.

BEATTIE, A. J.; BARTHLOTT, W.; ELISABETSKY, E.; FARREL, R.; KHENG, C. T.; PRANCE, I.; ROSENTHAL, J.; SIMPSON, D.; LEAKEY, R. R. B.; WOLFSON, M.; TEM, K. K.; LAIRD, S. New products and industries from biodiversity. In: HASSAN, R.; SCHOLLES, R.; ASH, E. N. (Ed.). **Ecosystems and human well-being**. Washington DC: Island Pres, 2005. p. 271-296.

BENNER, J. P. Pesticidal compounds from higher plants. **Pesticide Science**, Oxford, v. 39, n. 2, p. 95-102, 1993.

BOCCHIGLIERI, A. Características e conservação da biodiversidade do bioma cerrado. In: GALINKIN, A. L.; PONDAAG, M. C. M. (Org.). **Capacitação de lideranças do cerrado**. Brasília, DF: TechnoPolitik : Fundação Cebrac, 2009. p. 39-48.

BOEKE, S. J.; BAUMGART, I. R.; LOON, J. J. A. van; HUIS, A. van; DICKE, M.; KOSSOU, D. K. Toxicity and repellence of African plants traditionally used for the protection of stored cowpea against *Callosobruchus maculatus*. **Journal of Stored Products Research**, Amsterdam, v. 40, n. 4, p. 423-438, 2004.

BOEKE, S. J.; SINZOGAN, A. A. C.; ALMEIDA, R. P.; BOER, P. W. M.; JEONG, G.; KOSSOU, D. K.; VANLOON, J. J. A. Side-effects of cowpea treatment with botanical insecticides on two parasitoids of *Callosobruchus maculatus*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Oxford, v. 108, n. 1, p. 43-51, 2003.

BRANDÃO, M. Plantas produtoras de tanino nos cerrados mineiros. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 16, n. 173, p. 33-35, 1992.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Plano Agrícola e Pecuário 2011/2012**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Política Agrícola, 2011. 92 p.

BRAZ-FILHO, R. Química de produtos naturais: Importância, interdisciplinaridade, dificuldades e perspectivas. A peregrinação de um pacatubano. **Química Nova**, São Paulo, v. 17, n. 5, p.405-445, 1994.

BROWN, M. F. Heritage as property. In: HUMPHREY, C.; VERDERY, K. (Ed.). **Property in question: value transformation in the global economy**. Nova lorque: Bloomsbury, 2004. p.49-68.

BUSCHBACHER, R. **Expansão agrícola e perda da biodiversidade no Cerrado: origens históricas e o papel do comércio internacional**. Brasília, DF: WWF Brasil, 2000. 98 p. (Série Técnica, v. 7).

BUSS, E. A.; PARK-BROWN, S. G. **Natural products for insect pest management**. Gainesville: University of Florida, IFAS, 2002. 6 p.

CAMINHA FILHO, A. **Timbós e rotenona: uma riqueza nacional inexplorada**. 2. ed. Rio de Janeiro: Serviço de Informação Agrícola, 1940. 14 p.

CERRADO e Pantanal. In: BIODIVERSIDADE brasileira: avaliação e identificação de áreas e ações prioritárias para a conservação, utilização sustentável e repartição de benefícios da biodiversidade brasileira. Brasília, DF, MMA: SBF, 2002. p. 175-215.

CHACON, J. de O. O timbó (Rotenona) usado como inseticida e toxico para peixes. **Boletim Técnico do Departamento Nacional de Obras Contra as Secas**, Fortaleza, v. 31, n. 2, p. 123-129, 1973.

CHITWOOD, D. J. Nematicidal compounds from plants. In: NIGG, H. N.; SEIGLER, D. (Ed.). **Phytochemical resources for medicine and agriculture**. New York: Plenum, 1992. p.185-204.

CINTRA, P.; PETACCI, F.; FERNANDES, J. B.; BUENO, O. C.; MALASPINA, O.; VIEIRA, P. C.; SILVA, M. F. G. F. Oral toxicity of chemical substances found in *Dimorphandra mollis* (Caesalpiniaceae) against honeybees (*Apis mellifera*) (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology**, Chico, n. 45, p.141-149, 2005a.

CINTRA, P.; PETACCI, F.; FERNANDES, J. B.; MALASPINA, O.; BUENO, O. C.; BUENO, F. C. Astilbin toxicity to leaf-cutting ants *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, v. 45, n. 2, p. 1-7, 2005b.

CINTRA, P.; PETACCI, F.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; SILVA, M. F. G. F.; MALASPINA, O.; BUENO, O. C. Toxicity of *Dimorphandra mollis* to workers of *Apis mellifera*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 115-118, 2002.

CIOCIOLA JUNIOR, A. I.; MARTINEZ, S. S. **Nim**: alternativa no controle de pragas e doenças. Belo Horizonte: EPAMIG, 2002. 24 p.

CLAY, J. W.; SAMPAIO, P. T. B. **Biodiversidade amazônica**: exemplos de utilização. Manaus: INPA. 2000. 409 p.

COATS, J. R. Risks from natural versus synthetic insecticides. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 39, p. 489-515, 1994.

COLEGATE, S. M.; MOLYNEUX, R. J. **Bioactive natural products**: detection, isolation, and structural determination. Boca Raton: CRC Press, 2008. 45 p.

CORDEIRO, E. M. G.; CORRÊA, A. S.; VENZON, M.; GUEDES, R. N. C. Insecticide survival and behavioral avoidance in the lacewings *Chrysoperla externa* and *Ceraeochrysa cubana*. **Chemosphere**, Amsterdam, v. 81, n. 10, p. 1352-1357, 2010.

COSTA, C.A.; ALVES, D.S.; FERNANDES, L.A.; MARTINS, E.R.; SOUZA, I.G.B.; SAMPAIO, R.A.; LOPES, P.S.N. Nutrição mineral da fava d'anta. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 25, n. 1, p. 24-28, 2007a.

COSTA, R. B.; SCARIOT, A. A fragmentação florestal e os recursos genéticos. In: COSTA, R. B. (Org.). **Fragmentação florestal e alternativas de desenvolvimento rural na região Centro-Oeste**. Campo Grande: UCDB. 2003. p. 53-74.

COSTA, E. L. N.; SILVA, R. F. P.; FIUZA, L. M. Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. **Acta Biologica Leopoldensia**, São Leopoldo, v. 26, n. 2, p. 173-185, 2004.

COSTA, C. A.; SOUZA, G. A.; ALVES, D. S.; ARAÚJO, C. B. O.; FERNANDES, L. A.; MARTINS, E. R.; SAMPAIO, R. A.; LOPES, P. S. N. Saturação por bases no crescimento inicial e na produção de flavonoides totais da fava-d'anta. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 25, n. 1, p. 49-52, 2007b.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T. M.; LEWIS, N. G. Natural products (secondary metabolites). In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. (Ed.). **Biochemistry and molecular biology of plants**. American Society of Plant Physiologists, 2000. p. 1250-1318.

CSEKE, L. J.; KIRAKOSYAN, A.; KAUFMAN, P. B.; WARBER, S. L.; DUKE, J. A.; BRIELMANN, H. L. **Natural products from plants**. Boca Raton: CRC Press, 2006. 51 p.

CUNHA, P. L. R.; VIEIRA, I. G. P.; ARRIAGA, A. M. C.; DE PAULA, R. C. M.; FEITOSA, J. P. A. Isolation and characterization of galactomannan from *Dimorphandra gardneriana* Tul. seeds as a potential guar gum substitute. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 23, n. 3, p. 880-885, 2008.

DAIDO, M.; FUKAMIYA, N.; OKANO, M.; TAGAHARA, K.; HATAKOSHI, M.; YAMAZAKI, H. Antifeedant and insecticidal activity of quassimoids against Diamondback Moth (*Plutella xylostella*). **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, Abingdon, v. 57, n. 2, p. 244-246, 1993.

BOER, H. de; VONGSOMBATH, C.; PALSSON, K.; BJÖRK, L.; JAENSON, T. G. T. Botanical repellents and pesticides used against hematophagous invertebrates in Lao Peoples's Democratic Republic: a comparative study of plants used in 66 villages. **Journal of Medical Entomology**, Honolulu, v. 47, n. 3, p. 400-414, 2010.

BRITO, J. de; MANICKAM, V. S.; GOPALAKRISHNAN, S.; USHIODA, T.; TANAKA, N. Determination of aglycone chirality in dihydroflavonol 3-O- $\beta$ -D-ranminosides by  $^1\text{H-NMR}$  spectroscopy. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 43, n. 2, p. 338-339, 1995.

DEAN, W. **Brazil and the struggle for rubber**. Cambridge: Cambridge University Press, 2002. 234 p. (Studies in Environment and History).

DIAS, B. F. S. Conservação da biodiversidade no bioma Cerrado: histórico dos impactos antrópicos no bioma Cerrado. In: FALEIRO, F. G.; FARIAS NETO, A. L. (Ed.). **Savanas: desafios e estratégias para o equilíbrio entre sociedade, agronegócio e recursos naturais**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2008. p. 303-33.

DUBEY, N. K.; SHUKLA, R.; KUMAR, A.; SINGH, P.; PRAKASH, B. Prospects of botanical pesticides in sustainable agriculture. **Current Science**, Bangalore, v. 98, n. 4, p. 479-480, 2010.

EFROM, C. F. S.; REDAELLI, L. R.; MEIRELLES, R. N.; OURIQUE, C. B. Laboratory evaluation of phytosanitary products used for control of the South American fruit fly, *Anastrepha fraterculus*, in organic farming. **Crop Protection**, Guildford, v. 30, n. 9, p. 1162-1167, 2011.

EISNER, T. Chemical ecology: Can it survive without natural products chemistry? **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, DC, v. 25, p. 14517-14518. 2003.

EITEN, G. Vegetação do cerrado. In: PINTO M. N. (Ed.). **Cerrado: caracterização, ocupação e perspectivas**. Brasília, DF: Editora da UnB, 1994. p. 17-73.

ELISABETSKY, E. Folklore, tradition, or know-how? **Cultural Survival Quarterly**, Cambridge, v. 15, p. 9-13. 1991.

EVANS, D. A.; KALEYSA, R. R. Effect of quassin on the metabolism of catecholamines in different life cycles stages of *Culex quinquefasciatus*. **Indian Journal of Biochemistry and Biophysics**, New Delhi, v. 29, n. 4, p. 360-363, 1992.

EVANS, D. A.; RAJ, R. K. Quassin: a mosquito larvicide with selective toxicity. **Journal of Ecotoxicology and Environmental Monitoring**, Palani, v. 1, n. 4, p. 243-249, 1991.

FARNSWORTH, N. R.; AKERELE, O.; BINGEL, A. S.; SOEJARTO, D. D.; GUO, Z. Medicinal plants in therapy. **Bulletin of the World Health Organization**, Geneva, v. 63, n. 6, p. 965-981, 1985.

FELFILI, J. M.; RIBEIRO, J. F.; BORGES FILHO, H. C.; VALE, A. T. Potencial econômico da biodiversidade do Cerrado: estágio atual e possibilidade de manejo sustentável dos recursos da flora. In: AGUIAR, L. M. S.; CAMARGO, A. J. A. (Ed.). **Cerrado: ecologia e caracterização**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2004. p. 177-220.

FELFILI, J. M.; SILVA JUNIOR, M. C.; REZENDE, A. V.; MACHADO, J. W. B.; WALTER, B. M. T.; SILVA, P. E. N.; HAY, J. D. Análise comparativa da florística e fitossociologia da vegetação arbórea do cerrado *sensu stricto* na Chapada Pratinha, Brasil. **Acta Botanica Brasílica**, Porto Alegre, v. 6, n. 2, p. 27-46, 1992.

FÉRES, C. A. O.; MADALOSSO, R. C.; ROCHA, O. A.; LEITE, J. P. V.; GUIMARÃES, T. M. D. P.; TOLEDO, V. P. P.; TAGLIATI, C. A. Acute and chronic toxicological studies of *Dimorphandra mollis* in experimental animals. **Journal of Ethnopharmacology**, Amsterdam, v. 108, n. 3, p. 450-456, 2006.

FERNANDES, M. C. A.; RIBEIRO, R. L. D.; AGUIAR-MENEZES, E. L. Manejo agroecológico de fitoparasitas. In: AQUINO, A. M.; ASSIS, R. L. (Ed.). **Agroecologia**: princípios e técnicas para uma agricultura orgânica sustentável. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p. 273-322.

FERREIRA, R. A.; BOTELHO, S. A.; DAVIDE, A. C.; MALAVASI, M. de M. Morfologia de frutos, sementes, plântulas e plantas jovens de *Dimorphandra mollis* Benth. - faveira (Leguminosae-Caesalpinioideae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 24, n. 3, p. 303-309, 2001a.

FERREIRA, J. T. B.; CORRÊA, A. G.; VIEIRA, P. C. **Produtos naturais no controle de insetos**. São Carlos: EdUFSCar, 2001b. 176 p.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.

GENG, Z. F.; LIU, Z. L.; WANG, C. F.; LIU, Q. Z.; SHEN, S. M.; LIU, Z. M.; DU, S. S.; DENG, Z. W. Feeding deterrents against two grain storage insects from *Euphorbia fischeriana*. **Molecules**, Basel, v. 16, n. 1, p. 466-476, 2011.

GENTRY, A. H.; HERRERA-MACBRYDE, O.; HUBER, O.; NELSON, B. W.; VILLAMIL, C. B. Regional overview: South América. In: HEYWOOD, V.H.; DAVIS, S.S. (Ed.). **Centers of plant diversity**. Cambridge: WWF, IUCN, 1997. p. 269-307.

GEOFFROY, E. Contribution to the study of *Robinia nicou* from a botanical, chemical, and physiological point of view. **Extrait des Annales de L'Institut Colonial de Marseille**, marseille, v. 2, p. 1-86, 1895.

GEORGE, J.; BAIS, H. P.; RAVISHANKAR, G. A. Biotechnological production of plant-based insecticides. **Critical Reviews in Biotechnology**, London, v. 20, n. 1, p. 49-77, 2000.

GLOWKA, L. **A guide to designing legal frameworks to determine access to genetic resources**. Gland: World Conservation Union, 1998. 97 p.

GOMES, L. J.; GOMES, M. O extrativismo e biodiversidade: o caso da fava-d'anta. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, v. 27, p. 66-69, 2000.

GONÇALVES, A. C.; VIEIRA, F. A.; REIS, C. A. F.; CARVALHO, D. Conservação de *Dimorphandra mollis* Benth. (Fabaceae) baseada na estrutura genética de populações naturais. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 34, n. 1, p. 95-101, 2010.

GONZALES-COLOMA, A.; REINA, M.; DIAZ, C. E.; FRAGA, B. M. Natural product-based biopesticides for insect control. In: MANDER, L.; LIU, H. W. B. **Comprehensive natural products II: chemistry and biology: volume 3: development and modification of bioactivity**. Amsterdam: Elsevier, 2010. p. 237-268.

GOTTLIEB, O. R.; BORIN, M. R. M. B. The diversity of plants. Where is it? Why is it there? What will it become? **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 66, p. 205-210. 1994. Suplemento.

GREGÓRIO, P. L. F.; SANTANA, J.; REDAELLI, L. R. Chemical and visual perception of *Anastrepha fraterculus* (Diptera, Tephritidae) in laboratory. **Iheringia. Série Zoologia**, Porto Alegre, v. 100, n. 2, p. 128-132, 2010.

GRIMALDI, D.; ENGEL, M. S. **Evolution of the insects**. Cambridge University Press. 2005. 755 p.

GUEDES, A. G. L. Timbó (*Derris urucu*): defensivo alternativo para uso em agricultura. **Agroecologia Hoje**, Botucatu, v. 6, p. 18-19, 2001.

HENRIQUES, R. P. B. O futuro ameaça. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, v. 33, p. 34-39. 2003.

HOHMANN, C. L.; SILVA, F. A. C.; NOVAES, T. G. Selectivity of neem to *Trichogramma pretiosum* Riley and *Trichogrammatoidea annulata* De Santis (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 39, n. 6, p. 985-990, 2010.

HOMMA, A. K. O. **Extratativismo vegetal na Amazônia: limites e oportunidades**. Brasília, DF: Embrapa-SPI. 1993. 202 p.

HOSTETTMAN, K.; QUEIROZ, E. F.; VIEIRA, P. C. **Princípios ativos de plantas superiores**. São Carlos: EdUFSCar, 2003. 152 p.

HUBINGER, S. Z.; CEFALI, L. C.; VELLOSA, J. C. R.; SALGADO, H. R. N.; ISAAC, V. L. B.; MOREIRA, R. R. D. *Dimorphandra mollis*: an alternative as a source of flavonoids with antioxidant action. **Latin American Journal of Pharmacy**, La Plata, v. 29, n. 2, p. 271-274, 2010.

HUBINGER, S. Z.; SALGADO, H. R. N.; MOREIRA, R. R. D. Controles físico, físico-químico, químico e microbiológico dos frutos de *Dimorphandra mollis* Benth., Fabaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 19, n. 3, p. 690-696, 2009.

ÍNDIA. Ministry of Environment and Forests. Biotechnology e bioprospecting for sustainable development: India's presentation. In: MINISTERIAL MEETING OF MEGABIODIVERSITY COUNTRIES, 2002. [Presentations...] Cancun. [S.l: s.n.], 2002.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 51, p. 45-66, 2006.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides: for richer, for poorer. **Pest Management Science**, West Sussex, v. 64, n. 1, p. 8-11, 2008.

ISMAN, M. B. Neem and other botanical insecticides: barriers to commercialization. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 25, n. 4, p. 339-344, 1997.

ISMAN, M. B.; MIRESMALLI, S.; MACHIAL, C. Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. **Phytochemical Review**, Dordrecht, v. 10, n. 2, p. 197-204, 2011.

ISMAN, M. B.; WAN, A. J.; PASSREITER, C. Insecticidal activities of essential oils to the tobacco cutworm, *Spodoptera litura*. **Fitoterapia**, Amsterdam, v. 72, n. 1, p. 65-68, 2001.

JACOBSON, M. Botanical pesticides: past, present and future. In: ARNASON, J. T.; PHILOGÈNE, B. J. R.; MORAND, P. **Insecticide of plant origin**. Washington, DC: American Chemical Society, 1989. p. 69-77. (ACS Symposium Series, 387).

JACOBSON, M. **Insecticides from plants: a review of literature: 1954-1971**. Washington, DC, US Department of Agriculture, 1975. (Agriculture Handbook, 461).

JAYASEKARA, T. K.; STEVENSON, P. C.; HALL, D. R.; BELMAIN, S. R.; Effect of volatile constituents from *Securidaca longepedunculata* on insect pests of stored grain. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 1, n. 2, p. 303-313, 2005.

JESUS, E.; SANO, E. Área remanescente do Cerrado: estimativa, mapeamento através de uso de um SIG. In: SIMPÓSIO ECOLOGIA E BIODIVERSIDADE DO CERRADO, 2002, Brasília, DF. Perspectivas e desafios para o século XXI. **Resumos...** Brasília, DF: EMBRAPA, 2002. 56 p.

KAPLAN, M. A. C.; FIGUEIREDO, M. R.; GOTTLIEB, O. R. Chemical diversity of plants from brazilian Cerrados. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 66, p. 50-55, 1994. Suplemento 1, parte I.

KATHRINA, G. A.; ANTONIO, L. O. J. Controle biológico de insetos mediante extratos botânicos. In: CARBALL, M.; GUAHARAY, F. (Ed.). **Controle biológico de pragas agrícolas**. Managua: CATIE, 2004. p. 137-160. (Série Técnica. Manual Técnico/CATIE, 35).

KIMBRELL, A. Breaking the law of life. **Resurgence**, Bideford, v. 182, p. 10-12, 1997.

KING, S. R.; CARLSON, T. J. Biomedicine, biotechnology, and biodiversity: the Western Hemisphere experience. **Interciencia**, Caracas, v. 20, n. 3, p. 134-39, 1995.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. Conservation of the Brazilian Cerrado. **Conservation Biology**, Boston, v. 19, n. 3, p. 707-713, 2005.

KONSTANTOPOULOU, I.; VASSILOPOULOU, L.; MAVRAGANI, T. P.; SCOURAS, Z. G. Insecticidal effects of essential oils: a study of the effect of essential oils extracted from eleven Greek aromatic plants on *Drosophila auraria*. **Experientia**, Basel, v. 48, n. 6, p. 616-619, 1992.

KORDALI, S.; CAKIR, A.; MAVI, A.; KILIC, H.; YILDIRIM, A. Screening of chemical composition and antifungal activity of essential oils from three turkish artemisia species. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 53, n. 5, p. 1408-1416, 2005.

KOUL, O.; WALIA, S. Comparing impacts of plant extracts and pure allelochemicals and implications for pest control. **CAB Reviews. Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources**, Wallingford, v. 4, n. 49, p. 1-30, p. 2009.

KOUL, O.; WALIA, S.; DHALIWAL, G. S. Essential oils as green pesticides: potential and constraints. **Biopesticides International**, Jalandhar, v. 4, n. 1, p. 63-84, 2008.

LAHLOU, M. Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. **Phytotherapy Research**, New York, v. 18, n. 6, p. 435-448, 2004.

LEATEMIA, J. A.; ISMAN, M. B. Efficacy of crude seed extracts of *Annona squamosa* against diamondback moth, *Plutella xylostella* L. in the greenhouse. **International Journal of Pest Management**, London, v. 50, n. 2, p. 129-133, 2004.

LEWINSOHN, T. M.; PRADO, P. I. **Síntese do conhecimento atual da biodiversidade brasileira**. Brasília, DF: MMA, 2003. p. 21-107. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biodiversidade/biodiversidade-brasileira/riqueza-das-espécies>> Acesso em: em: 12 nov. 2013.

LIMA, C. S. A. **Desenvolvimento de um modelo para manejo sustentado do Cerrado**. 1997. 159 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

LIMA, J. E. F. W.; SILVA, E. M. Recursos hídricos do bioma cerrado: Importância e situação. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P.; RIBEIRO, J. F. (Ed.). **Cerrado: ecologia e flora**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2008. 406 p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 4.ed. São Paulo: Nova Odessa. 2002. 352 p.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras**: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 352p.

LUCCI, N.; MAZZAFERA, P. Distribution of rutin in fava d'anta (*Dimorphandra mollis*) seedlings under stress. **Journal of Plant Interactions**, Abingdon, v. 4, n. 3, p. 203-208, 2009.

LUITGARDS-MOURA, J. F.; BERMUDEZ, E. G. C.; FELISBERTO, A.; ROCHA, I.; TSOURIS, P.; ROSA-FREITAS, M. G. Preliminary assays indicate that *Antonia ovata* (Loganiaceae) and *Derris amazonica* (Papilionaceae), ichthyotoxic plants used for fishing in Roraima, Brazil, have an insecticide effect on *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 97, n. 5, p. 737-742, 2002.

MACHADO, R. B.; AGUIAR, L. M. S.; CASTRO, A. A. J. F.; NOGUEIRA, C. C.; NETO, M. B. R. Caracterização da fauna e flora do cerrado. In: FALEIRO, F. G.; NETO, A. L. F. (Ed.). **Savanas: desafios e estratégias para o equilíbrio entre sociedade, agronegócio e recursos naturais** (Ed.). Planaltina: Embrapa Cerrados, 2008. p. 285-300.

MACHADO, R. B.; RAMOS NETO, M. B.; PEREIRA, P. G. P.; CALDAS, E. F.; GONÇALVES, D. A.; SANTOS, N. S.; TABOR, K.; STEININGER, M. **Estimativa de perda da área do Cerrado brasileiro**. Brasília, DF: Conservation International do Brasil, 2004. Relatório técnico não publicado.

MAKLOUF, L. A volta do timbó: o terror das pragas. **Globo Rural**, São Paulo, v. 1, n. 9, p. 86-89, 1986.

MARQUELLI, R. P. **O desenvolvimento sustentável da agricultura no Cerrado brasileiro**. 2003. 54 f. Monografia (Especialização *Lato Sensu*) – ISAEFGV, Eco-business School, Brasília, DF.

MARTINEZ, S. S. **O nim, *Azadirachta indica***: natureza, usos múltiplos, produção. Londrina: IAPAR, 2002. 142 p.

MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 3.ed. Fortaleza: Edições UFC, 2009. 150 p.

MATSUMURA, F. Naturally occurring botanical insecticides. In: MATSUMURA, F. **Toxicology of insecticides**. London: Plenum, 1976. p. 134-139

MELLO, G. C.; RUIZ, K. F.; SQUEBOLA, D. M.; SCHENKA, A. A.; SOUZA, I. A.; MACEDO, M. L. R.; ANTUNES, E. Enhancement of the pulmonary allergic granulocyte recruitment in rats exposed to DMTI-II, a Kunitz-type inhibitor isolated from *Dimorphandra mollis* seeds. **International Immunopharmacology**, Amsterdam, v. 11, n. 6, p. 740-747, 2011.

MENDONÇA, R. C.; FELFILI, J. M.; WALTER, B. M. T.; SILVA JUNIOR, M. C.; REZENDE, A. V.; FILGUEIRAS, T. S.; NOGUEIRA, P. E. Flora vascular do Cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. (Ed.). **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 1998. p. 289-556.

MENDONÇA, R. C.; FELFILI, J. M.; WALTER, B. M. T.; SILVA JÚNIOR, M. C.; REZENDE, A. V.; FILGUEIRAS, T. S.; NOGUEIRA, P. E.; FAGG, C. W. Flora vascular do bioma Cerrado: checklist com 12.356 espécies. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P.; RIBEIRO, J. F. (Ed.). **Cerrado: ecologia e flora**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2008. v. 2. p. 423-1279.

MENEZES, E. L. A. **Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2005. 58 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 205).

MINEUR, Y. S.; ABIZAID, A.; RAO, Y.; SALAS, R.; DILEONE, R. J.; GÜNDISCH, D.; DIANO, S.; DE BIASI, M.; HORVARTH, T. L.; GAO, X. B.; PICCIOTTO, M. R. Nicotine decreases food intake through activation of POMC neurons. *Science*, Washington, DC, v. 332, n. 6035, p. 1330-1332, 2011.

MORAIS, R. G.; JORGE, S. S. A.; NETO, G. G. Pesquisas regionais com informações sobre plantas medicinais: a diversidade biológica e sócio-cultural de Mato Grosso em foco. In: COELHO, M. F. B.; JÚNIO, P. C.; DOMBROSKI, J. L. D. **Diversos olhares em etnobiologia, etnoecologia e plantas medicinais**. Cuiabá: Unicen, 2003. 250 p. Edição dos anais do I Seminário Mato-Grossense de Etnobiologia e Etnoecologia e II Seminário Centro-Oeste de Plantas Medicinais, Cuiabá, 2003.

MORAN, K.; KING, S. R.; CARLSON, T. J. Biodiversity prospecting: lessons and prospects. **Annual Review of Anthropology**, Palo Alto, v. 30, p. 505-526, 2001.

MUSGRAVE, T.; GARDNER, C.; MUSGRAVE, W. **The plant hunters**: two hundred years of adventure and discovery around the world. Londres: The Orion, 2000. 224 p.

GUARIM NETO, G.; MORAIS, R. G. Recursos medicinais de espécies do cerrado do Mato Grosso: um estudo bibliográfico. **Acta Botânica Brasileira**, Porto Alegre, v. 17, n. 4, p. 561-584, 2003.

NEVES, B. P.; OLIVEIRA, I. T.; NOGUEIRA, J. C. **Cultivo e utilização do nim indiano**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2003. 12 p. (Embrapa Arroz e Feijão. Circular Técnica, 62).

NIMER, E. **Climatologia do Brasil**. Rio de Janeiro: IBGE, Departamento de Recursos Naturais e Ambientais, 1989. 421 p.

OLIVEIRA, D. A.; NUNES, Y. R. F.; ROCHA, E. A.; BRAGA, R. F.; PIMENTA, M. A. S.; VELOSO, M. D. M. Potencial germinativo de sementes de fava-d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth. – Fabaceae: Mimosoideae) sob diferentes procedências, datas de coleta e tratamentos de escarificação. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 32, n. 6, p. 1001-1009, 2008a.

OLIVEIRA, D. A.; PAULA, M. F. B. de; PIMENTA, M. A. S.; BRAGA, R. F.; FERREIRA, M. F. M.; RODRIGUES, L. A. Variabilidade genética de populações de fava d'anta (*Dimorphandra mollis*) da região norte do estado de Minas Gerais. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 32, n. 2, p. 355-363, 2008b.

OPOLOT, H. N.; AGONA, A.; KYAMANYWA, S.; MBATA, G. N.; ADIPALA, E. Integrated field management of cowpea pests using selected synthetic and botanical pesticides. **Crop Protection**, Guildford, v. 25, n. 11, p. 1145-1152, 2006.

ORLOVE, B. S.; BRUSH, S. B. Anthropology and the conservation of biodiversity. **Annual Review of Anthropology**, Palo Alto, v. 25, p. 329-352, 1996.

PACAN, C.; LOUSTALOT, A. J. Comparison of chemical values with the toxicological rotenone equivalent of *Derris* and *Lonchocarpus* roots. **Journal of Agricultural Research**, Lahore v. 78, n. 7, p. 197-205, 1949.

PACHECO, M. V.; MATTEI, V. L.; MATOS, V. P.; SENA, L. H. M. Germination and vigor of *Dimorphandra mollis* benth. seeds under different temperatures and substrates. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 34, n. 2, p. 205-213, 2010.

PANEGASSI, V. R.; SERRA, G. E.; BUCKERIDGE, M. S. Potencial tecnológico do galactomanano de sementes de faveiro (*Dimorphandra mollis*) para uso na indústria de alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 3, p. 1-28, 2000.

PARRY, B. **Trading the genome**: investigating the commodification of bioinformation. Nova Iorque: Columbia University Press, 2004. 319 p.

PEREIRA, B. A. S. Flora nativa. In: DIAS, B. F. S. **Alternativas de desenvolvimento dos Cerrados**: Manejo e conservação dos recursos naturais renováveis. Brasília, DF: FUNATURA: IBAMA, 1992. p. 53-62.

PETACCI, F. **Aspectos químicos de um ninho de saúvas (*Atta sexdens rubropilosa*) e propriedades inseticida de *Dimorphandra mollis* (Fabaceae, Caesalpinioideae)**. 2001. 123 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

PETACCI, F.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; SILVA, M. F. G. F.; MALASPINA, O.; CORREA, A. G. Biological activity of astilbin from *Dimorphandra mollis* Benth. against *Anticarsia gemmatalis* Hübner and *Spodoptera frugiperda* Smith. **Pest Management Science**, West Sussex, v. 58, n. 5, p. 503-507, 2002.

PETACCI, F.; FREITAS, S. S.; BRUNETTI, I. L.; KHALIL, N. M. Inhibition of peroxidase activity and scavenging of reactive oxygen species by astilbin isolated from *Dimorphandra mollis* (Fabaceae, Caesalpinioideae). **Biological Research**, Santiago, v. 43, n. 1, p. 63-74, 2010.

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, p. 45-61, 2002. Suplemento 1.

PIRES, M. O. Cerrado: sociedade e biodiversidade. In: IORIS, E. **Plantas medicinais do Cerrado**: Perspectivas comunitárias para a saúde, o meio ambiente e o meio sustentável. Mineiros: FIMES, 1999. p. 155-173. Edição dos anais do Workshop Plantas Medicinais do Cerrado, 1999.

PRESCOTT, J.; GAUTHIER, B.; SODI, J. M. S. **Guide to developing a biodiversity strategy from a sustainable development perspective**. Quebec: IEPF, 2000. 71 p.

RAGURAMAN, S.; SINGH, R. P. Biological effects of neem (*Azadirachta indica*) seed oil on an egg parasitoid, *Trichogramma chilonis*. **Journal of Economic Entomology**, Geneva, v. 92, n. 6, p. 1274-1280, 1999.

RATTER, J. A.; RIBEIRO, J. F.; BRIDGEWATER, S. The Brazilian cerrado vegetation and threats to its biodiversity. **Annals of Botany**, London, v. 80, n. 3, p. 223-230, 1997.

REGNAULT, R. C.; HAMRAOUI A. Efficiency of plants from the South of France used as traditional protectants of *Phaseolus vulgaris* L. against its bruchid *Acanthoscelides obtectus* (Say). **Journal of Stored Product Research**, Oxford, v. 29, n. 3, p. 259-264, 1993.

REID, W. V.; LAIRD, S. A.; MEYER, C. A.; GAMEZ, R.; SITTENFELD, A.; JANZEN, D. H.; GOLLIN, M. A.; JUMA, C. A new lease on life. In: REID, W. V.; LAIRD, S. A.; MEYER, C. A.; GAMEZ, R.; SITTENFELD, A.; JANZEN, D. H.; GOLLIN, M. A.; JUMA, C. **Biodiversity prospecting**: using genetic resources for sustainable development. Washington, DC: World Resources Institute, 1993. 52 p. entomology

REMBOLD, H.; SHARNA, G. H.; CZOPPELT, C. H.; SCHUMUTTERER, H. Azadirachtin: a potent insect growth regulator of plant origin. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 93, n. 1-5, p. 12-17, 1982.

REZENDE, A. V. Importância das matas de galeria: manutenção e recuperação. In: RIBEIRO, J.F.(Ed.). **Cerrado**: matas de galeria. Planaltina: Embrapa Cerrados, 1998. p. 3-16.

REZENDE, E. A. **Biopirataria ou bioprospecção? Uma análise crítica da gestão do saber tradicional no Brasil**. 2008. 416 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal da Bahia, Salvador.

RIBEIRO, J. F.; BARROS, C. J. S. O impacto da soja na biodiversidade do cerrado: desafios para a sustentabilidade. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 2., 2002. Brasília, DF. **Perspectivas do agronegócio da soja**: anais. Londrina: Embrapa Soja, 2002. p. 24-35

RIBEIRO, J. F.; DIAS, T. Diversidade e conservação da flora. In: BIODIVERSIDADE do Cerrado e Pantanal: áreas e ações prioritárias para conservação. Brasília, DF: MMA, 2007. p. 21-138.

RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T. Fitofisionomias do bioma Cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. (Ed.). **Cerrado**: ambiente e flora. Brasília, DF: Embrapa Cerrados, 1998. p. 89-166.

RIZZINI, C. T.; MORS, W. B. **Botânica econômica brasileira**. São Paulo: EPU: EDUSP, 1976. 207 p.

ROARK, R. C. Some promising insecticidal plants. **Economic Botany**, New York, v. 1, n. 4, p. 437-445, 1947.

ROEL, A. R.; VENDRAMIM, J. D.; FRIGHETTO, R. T. S.; FRIGHETTO, N. Atividade tóxica de extratos orgânicos de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) sobre *Spo-doptera frugiperda* (J. E. Smith). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 29, n. 4, p. 799-808, 2000.

ROSS, J. D.; SOMBRERO, C. Environmental control of essential oil production in Mediterranean plants. In: HARBORNE, J. B.; TOMAS-BARBERAN, F. A. (Ed.). **Ecological chemistry and biochemistry of plant terpenoids**. New York: Oxford University Press. 1991. 439 p.

RUBIN, S. M.; FISH, S. C. Biodiversity prospecting: Using innovative contractual provisions to foster ethnobotanical knowledge, technology, and conservation. **Colorado Journal of International Environmental Law and Policy**, Niwot, v. 5, p. 23-58, 1994.

RUSCOE, G. N. Growth disruption effects of an insect antifeedant. **Nature New Biology**, London, v. 236, p. 159-160, 1972.

SADEK, P. **The HPLC solvent guide**. 2nd ed. New York: J. Wiley, 2003. 643 p.

SANO, E. E.; JESUS, E. T.; BEZERRA, H. S. **Uso de um sistema de informação geográfica para quantificação de áreas remanescentes do Cerrado**. Planaltina: Embrapa Cerrados. 2001. 4 p. (Embrapa Cerrados. Comunicado Técnico, 62).

SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P.; RIBEIRO, J. F. (Ed.). **Cerrado: ecologia e flora**. Planaltina: Embrapa Cerrados; Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 2008a. 406 p.

SANO, E. E.; ROSA, R.; BRITO, J. L. S.; FERREIRA, L. G. Mapeamento semide-talhado do uso da terra do bioma Cerrado. **Pesquisa agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 43, n. 1, p. 153-156, 2008b.

SANTOS, T. C. C.; CÂMARA, J. B. D. (Org.). **GEO Brasil 2002: environmental outlooks in Brazil**. Brasília, DF: IBAMA. 2002. 447 p.

SARKER, S. D.; LATIF, Z.; GRAY, A. I. **Natural Products Isolation**. 2nd ed. New Jersey: Humana Press, 2006. 513 p.

SAXENA, R. C. Botanical pest control. In: DHALIWAL, G. S.; HEINRICHS, E.A. (Ed.). **Critical issues in insect pest management**. New Delhi: Common Wealth, 1998. p. 155-179

SCALON, S. P. Q.; FILHO, H. S.; MUSSURY, R. M.; MACEDO, M. C.; KISSMANN, C. Potencial germinativo de sementes de *Dimorphandra mollis* Benth. em armazenamento, tratamentos pré-germinativos e temperatura de incubação. **Cerne**, Lavras, v. 13, n. 3, p. 321-328, 2007.

SCHMUTTERER, H. Side effects of neem (*Azadirachta indica*) products on insect pathogens and natural enemies of spider and insects. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 121, n. 1-5, p. 121-128, 1997.

SHARDA, S.; RAO, P. J. Effect of *Ageratum conyzoides* on development and reproduction of *Spodoptera litura*. **Indian Journal of Entomology**, New Delhi, v. 62, n. 3, p. 231-238, 2000.

SHARMA, S. S.; GILL, K.; MALIOK, M. S.; MALIK, O. P. Insecticidal, antifeedant and growth inhibitory activities of essential oils of some medicinal plants. In: SUSHIL, K.; HASAN, S. A.; SAMRESH, D. KUKREJA, A. K.; ASHOK, S.; SHARMA, A. K. (Ed.). **Proceedings of the national seminar on the frontiers of research and development in medicinal plants**. Lucknow: CIMAP, 2001. p. 288-298.

SHEPHERD, G. J. **Plantas terrestres**. Brasília, DF: MMA, 2003. p. 147-192. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biodiversidade/biodiversidade-brasileira/riqueza-das-espécies>> Consulta em: 12 nov. 2013.

SICK, H. As aves do cerrado como fauna arborícola. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 38, n. 2, p. 355-363, 1966.

SILVA, J. M. C. Birds of the cerrado region, South America. **Steenstrupia**, København, v. 21, p. 69-92. 1995.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. **Spectrometric identification of organic compounds**. 6. ed. New York: J. Wiley, 1998. 865 p.

SISTEMA Brasileiro de Classificação de Solos. Brasília, DF: Embrapa Produção de Informação; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 1999. 412 p.

SOUSA, M. P.; MATOS, M. E. O.; MATOS, F. J. A.; MACHADO, M. I. L.; CRAVETRO, A. A. **Constituintes químicos ativos de plantas medicinais brasileiras**. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 1991. p. 295-298.

SOUZA, H. A. V.; LOVATO, M. B. Genetic diversity and structure of the critically endangered tree *Dimorphandra wilsonii* and of the widespread in the Brazilian Cerrado *Dimorphandra mollis*: Implications for conservation. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 38, n. 1, p. 49-56, 2010.

SOUZA, G. A.; QUEIROZ, J. M. R.; ANJOS, O. F.; SANTOS, E. A. M.; MARTINS, E. R. FERNANDES, L. A.; COSTA, C. A. Levantamento ecogeográfico de *Dimorphandra mollis* Benth. (Leguminosae-Caesalpinioideae) no Norte de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 10, n. 1, p. 51-62, 2008.

SPURR, F. A. Report on insecticides containing *Derris* or *Cube* (rotenone determination). **Journal of the Association of Official Agricultural Chemists**, Baltimore, v. 32, p. 392-392, 1949.

STARK, J. D.; WONG, T. T. Y.; VARGAS, R. I.; THALMAN, R. K. Survival, longevity, and reproduction of tephritid fruit fly parasitoids (Hymenoptera: Braconidae) reared from fruit flies exposed to azadirachtin. **Journal of Economic Entomology**, Geneva, v. 85, n. 4, p. 1125-1129, 1992.

STROLL, G. **Insecticidal plants**: natural crop protection in the tropics. Weikersheim: Margraf Scientific Books, 1986.

TADEG, H.; MOHAMMED, E.; ASRES, K.; GEBRE-MARIAM, T. Antimicrobial activities of some selected traditional Ethiopian medicinal plants used in the treatment of skin disorders. **Journal of Ethnopharmacology**. Amsterdam, v. 100, n. 1-2, p. 168-175, 2005.

TANG, J. D.; GILBOA, S.; ROUSH, R. T.; SHELTON, A. M. Inheritance, stability and lack-of-fitness costs of field-selected resistance to *Bacillus thuringiensis* in diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) from Florida. **Journal of Economic Entomology**, Geneva, v. 90, n. 3, p. 732-741, 1997.

TAVARES, W. S.; COSTA, M. A.; CRUZ, I.; SILVEIRA, R. D.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. C. Selective effects of natural and synthetic insecticides on mortality of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and its predator *Eriopsis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae). **Journal of Environmental Science and Health. Part B**, New York, v. 45, n. 6, p. 557-561, 2010a.

TAVARES, W. S.; CRUZ, I.; FONSECA, F. G.; GOUVEIA, N. L.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. C. Deleterious activity of natural products on postures of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae). **Zeitschrift für Naturforschung**, Wiesbaden, v. 65, n. 5-6, p. 412-418, 2010b.

TAVARES, W. de S.; CRUZ, I.; PETACCI, F.; ASSIS JÚNIOR, S. L.; FREITAS, S. S.; ZANUNCIO, J. C.; SERRÃO, J. E. Potential use of Asteraceae extracts to control *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and selectivity to their parasitoids *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae). **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 30, n. 3, p. 384-388, 2009.

TAVARES, W. S.; CRUZ, I.; PETACCI, F.; FREITAS, S. S.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. C. Insecticide activity of piperine: Toxicity to eggs of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) and phytotoxicity on several vegetables. **Journal of Medicinal Plants Research**, [S.l.], v. 5, n. 21, p. 5301-5306, 2011.

TRIPATHI, A. K. Phytochemicals in insect-pest management. In: SRIVASTAVA, R.P. (Ed.). **Biopesticides and bioagents in integrated pest management of agricultural crops**. Lucknow: International Book, 2003. p. 220-267.

VILLALOBOS, R.; MARMILLOD, D.; OCAMPO, R.; MORA, G.; ROJAS, C. Variations in the quassin and neoquassin content in *Quassia amara* (Simaroubaceae) in Costa Rica: ecological and management implications. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 502, p. 369-376, 1999.

WIESBROOK, M. L. Natural indeed: are natural insecticides safer and better than conventional insecticides? **Illinois Pesticide Review**, [S.l.], v. 17, n. 3, p. 1-8, 2004.

WIWATTANAPATAPEE, R.; SAE-YUN, A.; PETCHARAT, J.; OVATLARNPORN, C.; ITHARAT, A. Development and evaluation of granule and emulsifiable concentrate formulations containing *Derris elliptica* extract for crop pest control. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 57, n. 23, p. 11234-11241, 2009.

YANG, F.; LIU, Z.; ZHEN, D.; LIN, Y.; CHEN, J.; RUAN, J.; CHEN, G. Determination of botanical insecticides residues in fish by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. **Food Analytical Methods**, New York, v. 4, n. 4, p. 601-607, 2011.

ZARIDAH, M. Z.; NOR AZAH, M. A.; ABU SAID, A.; MOHD FARIDZ, Z. P. Larvicidal properties of citronellal and *Cymbopogon nardus* essential oils from two different localities. **Tropical Biomedicine**, Kuala Lumpur, v. 20, p. 169-174, 2003.

ZENG, X. N.; ZHU, C. Y.; GAO, Y. Solubility, stability, and synergistic acaricidal activity of rotenone in mandarin oil. **International Journal of Acarology**, West Bloomfield, v. 35, n. 2, p. 169-173, 2009.

ZHAO, J. Z.; LI, Y. X.; COLLINS, H. L.; GUSUKUMA-MINUTO, L.; MAU, R. F. L.; THOMPSON, G. D.; SHELTON, A. M. Monitoring and characterization of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) resistance to spinosad. **Journal of Economic Entomology**, Geneva, v. 95, n. 2, p. 430-436, 2002.

ZHOU, Z. Z.; YOU, W. W. Progress in the study of rotenone derivatives. **Chinese Journal of Organic Chemistry**, v. 28, n. 11, p. 1849-1856, 2008.

## Modelagem e Simulação como Ferramentas para o Estudo de Agentes de Controle Biológico de Pragas

Maria Conceição P. Y. Pessoa, Luiz A. N. de Sá e  
Miriam F. Fujinawa

---

### Introdução

O crescente apelo mundial registrado nas duas últimas décadas relativo a questões associadas às poluições ambientais decorrentes de fontes antropogênicas, incidiu também na necessidade de se assegurar a sustentabilidade ambiental dos agroecossistemas, dada a força ecológica que estes últimos potencialmente exercem sobre a conservação da biodiversidade e dos recursos naturais, bem como na influência direta que possuem na segurança do alimento e na segurança alimentar da população (OLIVEIRA, 2005; PESSOA et al., 2002, 2004, 2006).

Declarações, convenções, relatórios e protocolos ou tratados ambientais, propostos a partir dos anos 60, ganharam mais força no Brasil na década de 90. Entre eles citam-se, principalmente, o Documento de Ovrannaz (ou Declaração de Ovrannaz, de 1968), o Relatório *The Limits of Growth* (de 1972), a Declaração sobre o Ambiente Humano (de 1972), a Convenção de Viena (de 1985), o Relatório *Our Common Future* da Comissão Brundtland (ou Relatório Brundtland, de 1987), o Protocolo de Montreal (de 1989), a Convenção-Quadro das Nações Unidas sobre Mudança do Clima (ou UN/FCCC, de 1994), o Protocolo de Kyoto (de 1997), entre outros

(BOLLER et al., 1998; IBAMA, 2014; LIMA et al., 2001; NAÇÕES UNIDAS, 1987; PESSOA et al., 2002; SILVA, 2009). Amplamente divulgadas em diferentes mídias, as ações decorrentes motivaram a maior adesão popular e a consequentes alterações nos padrões comportamentais e culturais da sociedade civil pelo seu maior entendimento a respeito dos aspectos causadores de impactos ambientais negativos.

Esse novo comportamento, refletido também nas opções de consumo, culminou na necessidade de proposição de sistemas de produção menos agressivos ao meio ambiente (PESSOA et al., 2002, 2006). A partir de então, maior visibilidade e ênfase foram dados à filosofia do Manejo Integrado de Pragas (MIP) centrado em técnicas de controle biológico que, embora já reconhecido no Brasil a partir da década de 70 (ALEONI; NAKANO, 1989; ALVES, 1998; BOTELHO et al., 1999; BUENO et al., 2011a, 2011b; CARVALHO, 1970; CORRÊA-FERREIRA; PANIZZI, 1999; CROCOMO, 1990; CRUZ, 1995; FERRIS, 1985; FIGUEIREDO et al., 1999; FIÚZA, 2003; FLORES et al., 1992; GAZZONI, 1994; GRAVENA, 1990; HABIB, 1989; HABIB; ANDRADE, 1998; INOUE et al., 2008; JOSE et al., 1992; KOMATSU; NAKANO, 1988; MARTINS et al., 2004; MENDONÇA, 1986; MORAES et al., 1994; MORENO et al., 1996; MOSCARDI; KASTELIC, 1985; OLIVEIRA et al., 2000; PARRA et al., 1984, 2002, 2007; PARRA; SÁ, 1992; PARRA; ZUCCHI, 1997; PINTO et al., 2006; SÁ, 2010; ZUCHI et al., 1989, entre outros), não era entendido à época como um método tradicional de controle.

O Manejo Integrado de Pragas (MIP) estabelece um conjunto de práticas e ações de controle para pragas-chave, levando em consideração as circunstâncias ecológicas, econômicas e sociais do cultivo atacado, no ambiente em que é produzido (BAJWA; KOGAN, 2002). Desse modo, o MIP pode ser entendido como um processo estratégico de tomada de decisão que identifica aspectos mais adequados ao manejo (legislativo, mecânico, cultural, genético,

químico e biológico, entre outros), com foco no controle do agroecossistema sob condições espaço-temporal e econômicas (custos de produção e controle) específicas.

A eficácia do planejado no programa de MIP depende, entre outras ações, do conhecimento atual e existente a respeito de interações entre os principais fatores bióticos e abióticos locais que, assim, influenciam positiva ou negativamente a dinâmica populacional da praga-alvo. Por essa razão, uma proposta de MIP não é única, uma vez que se inicia na seleção de métodos e no acesso às informações locais. São essas informações que determinam, a priori, os indicadores que estabelecem quando uma população de um organismo (inseto ou patógenos, por exemplo) se aproxima ou passa a atingir níveis populacionais, ou níveis de injúria, conflitantes com os interesses econômicos da produção do cultivo onde está presente, tornando-se, portanto, uma “praga”. Esses indicadores são: a) a densidade da praga que começa a causar dano econômico à cultura sem ainda causar a perda de produção, justificando, portanto, os custos de adoção de medidas de controle populacional, a recuperação do nível de controle estabelecida pelo MIP para evitar perdas (Limiar Econômico (LE), também conhecido como Nível de Controle (NC) ou Nível de Ação (NA)) (BUENO et al., 2010; SILVEIRA NETO et al., 1976; ZADOKS, 1985); e b) a densidade da praga que já causa perda de produção (Nível de Dano Econômico (NDE)) (FAZOLIN; ESTRELA, 2004; NEVES, 2004; SILVEIRA NETO et al., 1976). Assim, amostragens periódicas da densidade populacional do organismo, realizada em monitoramentos locais, são comparadas aos padrões de referência (indicadores) para determinar o momento em que o controle deva ser realizado.

As técnicas de controle biológico, um dos principais pilares do MIP, identificam, avaliam e utilizam organismos benéficos (parasitoides, parasitos, predadores, microrganismos entomopatogênicos e antagonísticos às doenças de plantas, nematóides entomopatogênicos,

ácaros predadores, entre outros) (PARRA et al., 1992, 2002; PINTO et al., 2006). Esses, geralmente, são identificados dentro de um conjunto conhecido de inimigos naturais da praga-alvo (hospedeira), nativos do país ou não (neste caso, introduzidos/exóticos), que apresentam características próprias para se tornarem potenciais agentes de controle biológico aplicado (PARRA et al., 2002). Esses organismos benéficos e seus respectivos hospedeiros-pragas são reproduzidos inicialmente em pequena escala e sob condição controlada de laboratório de criação, para avaliação em estudos mais detalhados (PARRA et al., 1992; PINTO et al., 2006). Desse modo, são determinados aspectos sincológicos do sistema hospedeiro-inimigo natural, visando a identificação de atributos populacionais que representem suas especificidades, seletividade, características de desenvolvimento e de preferências, bem como da eficiência de controle do hospedeiro, propriamente dito, sob diferentes condições (SILVEIRA NETO et al., 1976).

Nesse contexto, as avaliações quantitativas oferecidas pelos estudos de dinâmica populacional do sistema praga-hospedeiro tornam-se imprescindíveis para o controle biológico, uma vez que proporcionam o conhecimento a respeito de estimativas populacionais das espécies avaliadas que refletem as densidades populacionais, suas capacidades bióticas e seus potenciais de movimentação em qualquer área (PESSOA et al., 2011; SILVEIRA NETO et al., 1976). Assim, estudos de dinâmica populacional apresentam potencial para serem aplicados em controle biológico clássico ou no controle aplicado (PESSOA et al., 2011). Quando um bioagente é selecionado, a criação massal do organismo é iniciada para subsidiar as liberações inundativas, ainda controladas, em lavouras infestadas com a praga, visando estudos sobre os possíveis impactos ambientais negativos dessa introdução em organismos não-alvo, como também a avaliação da eficácia local do controle aplicado (PARRA et al., 2002; PINTO et al., 2006). Desse modo, o controle biológico é

realizado pela liberação do bioagente para a estabilização da população do hospedeiro com densidades populacionais compatíveis com o nível crítico de dano já estabelecido para o cultivo comercial pelo MIP. Esses estudos também possibilitam determinar se os potenciais bioagentes, de sucesso nas pesquisas de laboratório, apresentam potencial para controle e estabilização em campo, o que muitas vezes não ocorre em função da falta de formulação ou de mecanismos de acondicionamento e transporte adequados (LENTEREN, 2009).

A capacidade de avançado crescimento do componente controle biológico dentro do contexto do MIP pode ser igualmente explicada, tanto pela maior diversidade de inimigos naturais benéficos encontrados nos agroecossistemas do país (muitos ainda por explorar), quanto pelos impactos ambientais negativos nos recursos naturais e humanos (contaminações de solo, água, atmosfera e no trabalhador) e nos produtos agrícolas oferecidos à população (intoxicações alimentares, alergias, entre outros) causados pela seleção e uso inadequados de agrotóxicos (PESSOA; SCRAMIN, 2004). Acrescenta-se que o uso de bioagentes de controle torna-se ainda mais indispensável em virtude do aumento na demanda internacional por adoção de certificação de produtos agropecuários, que exige deferência aos protocolos de boas práticas agrícolas (CAVENAGUE, 2005; CAVICCHIOLI et al., 2005; OLIVEIRA, 2005; PARRA et al., 2002; PESSOA et al., 2002, 2006). Nesses protocolos, o bem-estar do trabalhador, a tecnologia de aplicação empregada, o uso controlado de agrotóxicos (dentro de uma grade de produtos autorizados para o cultivo, previamente selecionada) e a atenção aos limites de resíduos permitidos, demandam responder às restrições impostas pelos países importadores de *commodities* agrícolas brasileiras certificadas, onde se insere a não aceitação de uso de alguns agrotóxicos aqui registrados, tornando o controle biológico muitas vezes uma opção exclusiva para o controle de pragas nos casos em que

se busca a certificação de produtos (PESSOA et al., 2002, 2006; SÁ; OLIVEIRA, 2006).

Os fatos supracitados incentivaram maior apoio e financiamento às pesquisas em busca de bioagentes de controle e o aparecimento de empresas privadas que potencializaram as chances de sucesso do controle biológico nas propostas de MIP. Acrescenta-se, porém, a apreensão gerada quanto ao acesso aos potenciais inimigos naturais para uso em controle biológico e uso de bioagentes de controle biológico aplicado, que vêm sendo motivadas pela Convenção sobre Diversidade Biológica (LEENTEREN et al., 2011); em particular nos aspectos descritos em seus artigos 14 “Avaliação de Impactos e Minimização de Impactos Negativos” e 15 “Acesso a Recursos Genéticos” (disponível em [http://www.rbma.org.br/anuario/pdf/legislacao\\_01.pdf](http://www.rbma.org.br/anuario/pdf/legislacao_01.pdf)). Simberloff (2012) alerta para os riscos inerentes relacionados às aplicações de controle biológico, quais sejam: efeitos diretos e indiretos em organismos não-alvo; dispersão do bioagente de controle para outras áreas (incluindo aquelas provocadas por ações humanas deliberadas ou inadvertidas); e modificações nas inter-relações entre o agente de controle e as espécies nativas, principalmente as passíveis de ocorrerem em função das mudanças globais do clima. Desse modo, esses riscos e limitações legais também devem ser conhecidos e considerados.

Tratando-se de uma atividade de planejamento, o uso de bioagentes no contexto do MIP demandava a disponibilidade, organização e agilidade na recuperação de informações. Por essa razão, tornou-se imprescindível a incorporação de técnicas que promovessem o aumento do conhecimento a partir de dados científicos, bem como a integração dessas informações (bióticas e abióticas), que influenciam na dinâmica populacional do sistema hospedeiro-bioagente. Por conseguinte, igualmente motivaram que profissionais de diferentes áreas (economia, biologia, engenharia agrônômica, engenharia florestal, matemática, computação, ecologia, engenharia

de alimentos, nutrição, química, entre outros) fossem capacitados para atuarem em controle biológico aplicado (PARRA et al., 2002). Difundiu-se, desse modo, a filosofia do MIP à maior gama de aplicações multidisciplinares, viabilizando a integração de técnicas diversas às várias áreas de pesquisa. Surgem assim, novas propostas metodológicas multidisciplinares, muitas inovadoras, entre as quais aquelas que incorporaram técnicas matemáticas e computacionais.

A utilização de técnicas matemáticas e computacionais no Brasil vem sendo registrada em diferentes áreas da pesquisa agropecuária possibilitando o uso de abordagens sistêmicas e a integração de métodos diferenciados (FERNANDES; PESSOA, 2010; PESSOA et al., 2011). Essas ferramentas igualmente viabilizam a avaliação da dinâmica natural, ou induzida, de processos bióticos e abióticos, integrados ou não, como também viabilizam estudar tendências e comportamentos desses processos por meio da proposição de cenários atuais e alternativos (PESSOA; FERNANDES, 2010). Como resultados, ofereceram a identificação de lacunas de conhecimento biológico necessário para melhor representar os sistemas já estudados e, igualmente, subsidiar a tomada de decisão mais apropriada, a partir de escolha priorizada em detrimento às outras opções disponibilizadas como resposta.

No contexto do controle biológico de pragas, as técnicas de modelagem matemática e simulação de sistemas se afirmaram ao se mostrarem, cada vez mais, adequadas à avaliação de estratégias de biocontrole de pragas de cultivos variados no Brasil (AMBROSANO et al., 1996; GAZZONI et al., 1998; KODAIRA; PASSOS, 2010; LAZARIN et al., 2011a, 2011b; PESSOA, 1994; PESSOA et al., 1993, 1996, 2008, 2009, 2011; PIRES et al., 2009; REIS JUNIOR et al., 2005; SUJI, 1994; SUJI et al., 2002; TERNES et al., 2005; TERNES; YAN, 2002; VILCARROMERO, 1996; ZUCHI et al., 1989, entre outros). Conseqüentemente, vêm contribuindo para a avaliação sistêmica da dinâmica populacional de organismos bené-

ficos, potenciais bioagentes de controle natural ou exótico de pragas de importância econômica. Igualmente auxiliaram na avaliação prévia da dinâmica de biogentes exóticos no controle de pragas quarentenárias A1 (ausentes no país) e A2 (já presentes, mas ainda não dispersas, e sob controle oficial) para subsidiar a melhoria da qualidade das criações laboratoriais. A partir das informações resultantes das simulações, viabilizou-se o acompanhamento do processo de introdução e/ou avaliação de fases de desenvolvimento, comportamento e fatores de dispersão do potencial bioagente em estudo, antes de ser iniciada sua criação massal. De igual modo, a técnica apresentou potencial para subsidiar, no contexto de propostas mais abrangentes de MIP, as liberações massais e os monitoramentos em campo (SERAFIM et al., 2011), a partir de estudos de liberação de diferentes populações massais do bioagente em períodos diversos de desenvolvimento do cultivo, considerando a influência climática e a incorporação por preferências de determinados estádios ninfais (ou ínstars) do hospedeiro (AMBROSANO et al., 1996; PESSOA, 1994).

O uso recente das técnicas de modelagem e simulação aplicadas à dinâmica populacional do sistema hospedeiro-praga indicaram potencial para otimizar a manutenção e a qualidade da criação massal de bioagentes em laboratório, uma vez que permitiram identificar recursos e períodos estratégicos mais favoráveis à reprodução dos bioagentes (LAZARIN et al., 2011a, 2011b; PESSOA et al., 2010, 2011). Constata-se assim, as grandes oportunidades para aplicação dessas técnicas a curto, médio e longo prazos em diferentes níveis do processo de controle biológico aplicado.

Este capítulo apresenta considerações a respeito de modelagem matemática e simulação de sistemas visando o desenvolvimento ou uso de ferramentas computacionais que utilizem essas técnicas no contexto de práticas metodológicas voltadas ao estudo de agentes de controle biológico de pragas.

## **Aspectos metodológicos gerais de modelagem e simulação de sistemas**

Embora não seja objeto deste capítulo apresentar detalhamento sobre os diferentes modelos disponíveis para aplicações em simulações voltadas ao controle biológico de pragas agrícolas, um nivelamento conceitual mínimo é imprescindível frente à multidisciplinaridade dos profissionais que se motivam a ingressar nessa área de pesquisa aplicada. Assim, esta seção abordará aspectos e os cuidados requeridos tanto para se fazer uso de modelos e simuladores já desenvolvidos, quanto para proposição de novas ferramentas; ambos considerados como fundamentais para assegurar análises e resultados posteriormente disponibilizados, inclusive a partir dos cenários gerados pelo uso desses instrumentos.

### **Importância do objetivo e de informações básicas para estudo por modelagem**

*“Se um homem não sabe a que porto se dirige, nenhum vento lhe será favorável!” Sêneca (4AC - 65DC)*

Um “problema real” pode ser explicado tanto pela descrição da sua natureza ou, quando esta não estiver totalmente determinada, pela aceitação científica de sua natureza por teorias fundamentadas em conhecimento científico já disponibilizado que indicam seus paradigmas. Assim um problema real a ser solucionado deve ser formulado, ou seja, descrito a partir do amadurecimento resultante da reflexão sobre o acervo de informação a respeito do assunto envolvido na sua caracterização, bem como da sensibilidade em se identificar circunstâncias importantes que o determine e aponte hipóteses a serem testadas, visando resolução, reformulação ou identificação de lacunas de conhecimento.

Um modelo é uma das possíveis descrições de um problema real compatível a um objetivo de estudo inicialmente determinado. Dessa forma, ele é enunciado com foco no objetivo. A ausência de informações para a sua representação é um fator limitante, que estabelece o nível de complexidade admissível para a caracterização do fenômeno real em estudo, ou até mesmo quando imprescindíveis à representação de teorias fundamentais, que invalida a sua formulação. Dessa maneira, certificar-se da confiabilidade e da existência de informações satisfatórias, sempre no contexto do preconizado pelo método científico, para a representação conceitual do modelo é obrigatoriamente indispensável para atestar-se a validade da sua posterior representação sistêmica.

Acrescenta-se ainda que, por se tratar de uma representação particular do modelador a respeito de um problema real sob enfoque de um objetivo previamente determinado, não só o nível de conhecimento do modelador quanto a sua percepção, subjetividade, capacidade de síntese e linha metodológica também estarão expostas no modelo proposto, motivo pelo qual não existe uma única condição para esta proposição. Desse modo, existem vários arranjos para a representação de um modelo para um mesmo objetivo. Aqui são identificados de igual forma o caráter de inediticidade da proposição; originalidade esta cuja importância e conceitualização foram salientadas em outras áreas da ciência, como a apresentada por Platão-Savioli e Fiorin (2007) ao relatarem suscitar do enunciador, não decorrer de aplicações de “fórmulas pré-fabricadas” e que evitem “o lugar comum”.

Nesse contexto, registram-se a existência de diferentes linhas metodológicas ou filosóficas em que se apoiam de igual modo as proposições de modelos e simuladores. Quando fundamentada em conhecimento disponibilizado por método indutivo, onde o enunciado “lógico”, base do modelo, alicerça-se em observações adquiridas

apenas pela indução de raciocínio baseado em evidências prévias (ou pressupostos) sem atentar às fases de formulação e comprovação de hipótese, podem incidir em erros graves nas premissas do modelo. Por esse motivo, é necessário atentar-se ao método científico, onde os conhecimentos utilizados e gerados originam-se de métodos deduzidos a partir de comprovações de hipóteses, o que dá sustentação, vigente até então, ao modelo formulado.

### **Modelagem conceitual e modelagem matemática**

Focado no objeto da análise, inicia-se a fase de modelagem conceitual. Esta representação conceitual dá-se, geralmente, de forma gráfica e compartimentalizada, expondo uma configuração lógica, ordenada, direta e elucidativa dos principais elementos, relacionamentos e interdependências que retratam as principais características, aspectos e mecanismos capazes de suscitar interações entre os elementos do modelo. Logo, a partir dela, definem-se elementos, inter-relações, dinâmica e os principais processos, ou seja, as sequências de atividades ou procedimentos desempenhados pelos elementos do sistema que, executados durante um período de tempo determinado para a sua ocorrência, podem causar alterações no estado dos elementos do sistema, ocasionando, portanto, diferentes respostas.

Quando os modelos são descritos por linguagem matemática são chamados de modelos matemáticos e o processo de representação do modelo nessa linguagem é denominado modelagem matemática. Sob este enfoque, um modelo é retratado por intermédio de um conjunto de elementos e de operadores lógicos, funções, sistemas de equações ou intervalos matemáticos, entre outros, que demonstram características, condições e relações funcionais existentes entre eles.

Nos modelos matemáticos também são descritos atributos de seus elementos, que possuem importância sistêmica particular: os parâmetros e as variáveis. Os parâmetros são atributos representados por valores fixados previamente. Estes valores, na grande maioria das vezes, são decorrentes de dados de laboratório ou de campo ajustados a modelos empíricos e, portanto, limitados às condições desses experimentos. Em decorrência, muitas vezes faz-se necessária a calibração de parâmetros para aferir o funcionamento dentro de intervalos aceitos para o objetivo da modelagem. Quando os atributos dos elementos do sistema não são constantes, sofrendo alterações em seus valores iniciais (dados de entrada) ao longo de um intervalo de tempo predeterminado e, deste modo, traçando as dependências das interações existentes entre seus elementos resultando nas respostas ao final do período (dados de saída), são denominados variáveis.

Igualmente importante é o processo de validação do modelo matemático proposto. Durante esse processo, os dados obtidos pelo modelo são comparados àqueles obtidos a partir de experimentos similares conduzidos em cenários reais acompanhados por método científico, para possibilitar verificar se o modelo desenvolvido responde à realidade observada, comprovando, de forma similar e dentro da mesma ordem de grandeza de resposta, a mesma hipótese testada. Métodos estatísticos estão disponíveis para esta avaliação e são melhor apresentados e discutidos em livros técnicos específicos (CAMPOS, 1979; PIMENTEL-GOMES, 2009; ZIEMMERMANN, 2004).

Pessoa e Fernandes (2010) apontam a importância do processo de modelagem matemática como ferramenta metodológica, seja pela sua relevância na identificação de lacunas de pesquisa básica, quanto na integração de conhecimento multidisciplinar que se encerra na proposta de descrição do modelo propriamente dito.

Frente ao exposto nos parágrafos precedentes, um modelo pode ser classificado por diferentes modos: a) área de aplicação - maquetes físicas, estatísticos, biogeoquímicos, econômicos, climatológicos, entre outros; b) tipo de solução que oferece - analíticos, determinísticos, numéricos, descritivos, empíricos, probabilísticos, estocásticos, heurísticos, conceituais, entre outros; c) relação que possui com a variável tempo-estáticos, dinâmicos, discretos, contínuos; d) estrutura ou forma - compartimental, *cohort*, *lumped*, holístico, normativo, entre outras; e) complexidade de informações e resposta oferecida- reducionista, *screening*, pesquisa, mecanicista, pontual, local, municipal, regional, global, entre outras. Acrescenta-se ainda que um mesmo modelo pode ser classificado em um ou mais tipos. Informações sobre esses tipos de modelos e aplicações encontram-se disponíveis na literatura técnica, inclusive para pesquisa agropecuária (DOURADO NETO et al., 1998; FERNANDES, 2010; PESSOA et al., 1997, 2011; PESSOA; SCRAMIN, 2004), bem como podem ser mais aprofundadas, tratando-se da modelagem matemática propriamente dita, em livros técnicos de referência da área (BARROSO et al., 1987; BASSANEZI; FERREIRA JUNIOR, 1988; CAMPOS, 1979; CASTRO SOBRINHO, 2006; HABERMAN, 1998; LASDON, 1970; LUENBERGER, 1979; NETER et al., 1990; NOBLE; DANIEL, 1986; RITCHER; SÖNDGERATH, 1990; SOUZA, 1998; VALENTIN, 2000).

### **O processo de simulação de sistemas**

Entende-se por simulação de sistemas a técnica de resolução de um determinado problema pela observação do desempenho da dinâmica do modelo do sistema que o representa, ao longo de um período de tempo e passo (intervalo entre as observações) pré-definidos. A técnica de simulação de sistemas não deve ser confundida com aplicações de técnicas numéricas para resolução de pro-

blemas sem solução passível de ser obtida pelo método analítico, estas últimas conhecidas por técnicas de computação numérica.

Na simulação são representados, dependendo do objetivo de desenvolvimento do simulador, um ou vários modelos matemáticos que, interconectados, permitem, a partir de uma entrada de dados oferecida pelo usuário (cenário ou dados de entrada), apresentar respostas que, depois de analisadas, representam as relações entre as diferentes variáveis. Para que isso seja realizado, os modelos matemáticos, as suas inter-relações e a interface com o usuário (opções de entradas e de saídas para a observação das respostas) são codificadas, ou programadas, em linguagens ou pacotes computacionais específicos.

Portanto, no processo de simulação, além das fases já descritas para o processo de modelagem matemática, também se inserem fases de desenvolvimento de diagrama computacional lógico e de fluxo (fluxogramas) e a fase de programação em linguagem computacional (código computacional).

Uma vez desenvolvido, o simulador deve ser validado, a exemplo daquele já discutido para os modelos matemáticos. Embora aparentemente desnecessário, sempre é bom lembrar que nesta etapa não se pode fazer uso dos mesmos dados já utilizados na elaboração do simulador. Após a validação, a ferramenta pode ser utilizada para testes de diferentes cenários (entradas de dados). Acrescenta-se ainda a fase de análise de sensibilidade, de fundamental importância na verificação do grau de influência de determinado parâmetro de entrada do simulador nos resultados obtidos pelos seus cenários simulados (saídas).

Os simuladores computacionais exigem tanto recursos computacionais físicos específicos (computadores, quantidade de memória, entre outros) para a sua instalação, como licenças para aquisição e uso de versões disponibilizadas. Por esta razão, deve-se atentar

ao objetivo da simulação oferecida pela ferramenta computacional, bem como à demanda de entrada de dados para a sua correta utilização e resultados oferecidos, assim, diminuem os riscos de utilização de simuladores inadequados. Entre esses riscos, cita-se como o mais comum a escolha de simuladores cuja entrada de dados requer grande aquisição de informação, incidindo em gastos elevados para atender às exigências dos dados iniciais, invalidando a relação custo-benefício de uso da ferramenta. Acrescentam-se como outros riscos, as opções de cenários e de respostas oferecidas por determinado simulador não possibilitarem o uso da ferramenta ao objetivo do estudo proposto, por abordar esse novo estudo, partes não priorizadas pelos modelos disponibilizados no recurso computacional já desenvolvido.

Vê-se, portanto, que os resultados das simulações fornecem informações para subsidiar a análise prévia de diferentes variáveis e atributos do sistema, ou combinações destes, passíveis de interferências muitas vezes despercebidas na eficiência do controle do sistema investigado. Desse modo, auxilia na identificação de pontos críticos de controle em diferentes cenários que, após analisados, subsidiam a identificação prévia de estratégias e atividades, evitando gastos desnecessários. Entre elas, citam-se proposições voltadas para o estudo da dinâmica hospedeiro-bioagente, as quais serão melhor discutidas posteriormente.

Há que se acrescentar ainda a existência de abordagens integrativas, incorporando métodos de simulação de sistemas a bancos de dados, sistemas inteligentes e sistemas geográficos, possibilitando o avanço na visão holística de problemas estudados (FERNANDES; PESSOA, 2010; PESSOA et al., 2011).

## **Modelos e simuladores aplicados ao controle biológico de pragas agrícolas**

A maioria dos modelos matemáticos que representam aspectos biológicos e a dinâmica de desenvolvimento de pragas é resultante de observações experimentais conduzidas em condição controlada de laboratório ou campo e, desse modo, considerando variáveis do sistema real que propiciam representar parte das relações existentes no alvo de interesse. Tratam-se, portanto, de modelos empíricos que limitam a condução de investigações subsequentes a se manterem, igualmente, dentro das condições iniciais estabelecidas.

A seguir são apresentadas algumas considerações sobre estudos aplicados ao controle biológico de pragas.

### **Modelos e simuladores aplicados à avaliação de doenças**

A importância da quantificação das doenças de plantas vem sendo destacada cada vez mais pela epidemiologia. Entretanto, o uso de técnicas matemáticas e estatísticas aplicadas aos estudos da dinâmica de epidemias de doenças de plantas com foco no seu controle não são recentes (CAMPBELL; MADDEN, 1990; KRANZ, 1988; PLANK, 1963), sendo utilizados ainda hoje em diversas aplicações. Entre elas, citam-se: a) descrição do progresso espaço-temporal de epidemias; b) avaliações da intensidade e severidade da doença; c) determinação da influência de variáveis abióticas na intensidade das doenças; d) identificação de pontos críticos no controle do sistema doença-hospedeiro; e) avaliação de estratégias de controle químico e de biocontrole; f) avaliação de inimigos naturais potenciais ao biocontrole; g) estimativas de danos e perdas; h) velocidade de aumento da doença (intensidade), entre outras.

Tratando-se de aplicações de modelagem e simulação para avaliação da relação patógeno-hospedeiro é importante considerar os principais fatores, etapas de desenvolvimento e efeitos do processo da doença nas diferentes fases do ciclo da dinâmica populacional patógeno-hospedeiro (infecção, incubação, latência, crescimento de lesão, esporulação, dispersão de esporos e sobrevivência de esporos). Igualmente, é necessário destacar as preferências do patógeno, inclusive pelo hospedeiro, e os fatores externos, tais como o manejo e a influência de fatores abióticos (temperatura, umidade relativa, radiação solar, pH do solo, entre outros) no desenvolvimento e na severidade da doença. Especificidades do patógeno caso a caso irão influenciar no seu desenvolvimento.

Generalizações advindas das facilidades de medições de uma determinada variável abiótica, em detrimento das outras igualmente importantes, podem comprometer ou invalidar os resultados obtidos pelas simulações. Desse modo, admite-se não ser somente a influência da temperatura do ar o único fator abiótico de importância a ser considerado nos modelos.

Ensaio conduzidos durante o plantio (campo) ou em laboratório (câmaras de crescimento) propiciam determinar o progresso da doença, bem como as taxas de crescimento do patógeno e do hospedeiro. Esses estudos identificam parâmetros que viabilizam estimar o grau de incidência (porcentagem de plantas infectadas por área) e o grau de severidade (porcentagem de área com tecido lesionado) da doença. Para estimar esses parâmetros é necessário determinar: o período de incubação (da inoculação ao aparecimento do sintoma), o período latente (da inoculação à produção de esporos), a frequência de infecção (quantidade de lesões por unidade de área) e esporulação (quantidade de esporos produzidos por unidade de área afetada).

A partir da coleta desses dados paramétricos inicia-se o processo de escolha do modelo matemático ou estatístico que melhor se ajuste aos dados observados. Técnicas para a linearização da curva obtida são empregadas para facilitar o uso posterior de análise de regressão, agora linear. Esta possibilita identificar o melhor ajuste entre os valores previstos e os observados, para que a partir da curva de regressão representativa da curva de progresso da doença observada, seja possível determinar os parâmetros, tais como: quantidade de inóculo inicial ( $N_0$ ) e a taxa de progresso da doença ( $r$ ) (PLANK, 1963).

Modelos matemáticos, tais como os exponencial (Malthus), logístico, de Gompertz, monomolecular, dependente do tempo e de Richards, têm sido amplamente ajustados às curvas de progresso de doenças (obtida pelo gráfico de porcentagem de doença ao longo do tempo) visando identificar parâmetros importantes, tais como: período de início e fim da doença ( $e$ , portanto, duração da epidemia), quantidade de inóculo iniciais ( $y_0$ ), taxa de progresso ou taxa de aumento da doença ( $r$ ), intensidades máxima e final da doença, entre outros. Porém, Pires et al. (2009) apontam que esses modelos assumem as premissas de que a distribuição de propágulos é aleatória e que as novas lesões produzem esporos que são distribuídos de forma aleatória sobre a superfície do hospedeiro e que, assim, podem causar novas infecções.

A seguir são apresentadas breves considerações sobre alguns desses modelos, sendo que, tanto esses quanto outros utilizados na área de fitopatologia, devem ser aprofundados em livros técnicos da área (CAMPBELL; MADDEN, 1990; MADDEN et al., 2007; PLANK, 1963; SKELSEY et al., 2013).

O modelo exponencial, ou modelo de Malthus, é um modelo muito simples de crescimento populacional densidade-independente com reprodução contínua, proposto por Malthus em 1798, e frequente-

mente aplicado à avaliação de crescimento populacional de bactérias, a partir de uma determinada quantidade inicial de inóculo.

Considerando  $N(t)$  como a densidade de bactérias observadas no instante de tempo  $t$  (ou a intensidade da doença em  $t$ ), tem-se que a população nascida no intervalo de tempo ocorrido entre dois instantes de tempo sucessivos, a saber,  $(t+1)$  e  $(t)$ , depende das taxas de natalidade ( $n$ ) e de mortalidade ( $m$ ) das bactérias. A condição inicial do modelo é definida pela população de bactérias existentes no instante de tempo  $t=0$ , ou seja, em  $N(0)$ .

Nesse modelo,  $k$  (também referenciado por “ $r$ ”) é a taxa de progresso da doença ( $re$ ), também conhecida por taxa intrínseca de aumento ou taxa de crescimento exponencial; e sempre determinada sobre um intervalo de tempo definido. Quando  $k=0$ , o tamanho da população se mantém constante, enquanto se  $k<0$  a população diminui até a extinção, e se  $k>0$  ocorre o crescimento populacional.

O modelo matemático pode ser apresentado tanto na forma contínua, mais usual, quanto na sua forma discreta. Quando contínuo, é descrito por equação diferencial ordinária e, quando discreto, por equação-a-diferenças. Nesse contexto, cabe destacar que ambas podem fornecer soluções semelhantes, motivo pelo qual representações de modelagem matemática por meio de modelos discretos não devem ser desprezadas; o que frequentemente ocorre, pela sua maior simplicidade de representação quando comparada àquela oferecida pelos modelos contínuos, que fazem uso de símbolos do cálculo diferencial. Para exemplificar o que se descreveu, seguem as duas abordagens de modelagem matemática para o modelo de Malthus.

Considerando-se o modelo matemático discreto tem-se a equação-a-diferenças:

$$N(t+1) - N(t) = nN(t) - mN(t)$$

Dessa equação, temos que:

$$N(t+1) = nN(t) - mN(t) + N(t) \Rightarrow N(t+1) = [ (1+ (n-m) ) N(t)$$

Se  $k =$  taxa de reprodução por unidade de tempo (ou taxa de progresso da doença (re) ou taxa de crescimento), temos que  $k = (n-m)$  e, assim,  $N(t+1) = (1+k) N(t)$ . A solução é apresentada por  $N(t+1) = (1+k) N(t)$ , com  $N(t) = N(0) (1+k)^t$ .

Considerando-se o modelo contínuo, supõe-se que  $N$  seja suficientemente grande para que o acréscimo de um ou mais indivíduos na população resulte em pouca consequência e que o crescimento ou a reprodução de indivíduos não sejam correlacionados, de modo que a taxa de aumento da doença seja representada pela equação diferencial ordinária:  $dN/dt = k N$

Essa razão de crescimento da população mostra-se, portanto, proporcional à  $N$  e à intensidade da doença e à taxa de progresso da doença. Assim, podemos escrever a equação diferencial ordinária da forma:  $dN/N = k dt$ .

Integrando-se ambos os lados no intervalo de 0 a  $t$ , tem-se  $N(t) = e^{(kt)} N(0)$ , sendo  $N(0)$  a população inicial (ou condição inicial). Vê-se, portanto, que as soluções oferecidas para o modelo matemático exponencial considerando que abordagens contínua e discreta são semelhantes, resultando na chamada curva exponencial (ou curva “J”).

O modelo de Verhulst ou modelo Logístico foi apresentado em 1838 e formula a hipótese de dependência da densidade populacional, limitada pela capacidade de suporte (ou capacidade de sustentação) do meio, conhecida por  $K$  ou  $c$ . Assim, a taxa de acréscimo da população em estudo pode ser representada em termos da quan-

tidade da população existente e da quantidade do fator limitante disponível (por exemplo, de tecido sadio) ainda não utilizado pela população.

Transcrito para linguagem matemática, esse modelo é apresentado pela taxa absoluta de crescimento da população observada ao longo de determinado tempo, dada por:

$$dN/dt = rN (1 - N/K)$$

onde :

$r$  = taxa absoluta de aumento da população;

$N$  = tamanho da população ou quantidade da população;

$(1-N/K)$  = proporção do fator limitante ( $K$ ) disponível, ainda não utilizado pela população  $N$ , ou resistência do ambiente provocada pelo crescimento da população.

Quando  $N$ , comparado ao valor da capacidade de suporte  $K$ , é pequeno, então o modelo se aproxima ao modelo exponencial. Tem-se, portanto, como outras formas de representação dessa taxa:  $dN/dt = r_L N (1 - N/K)$ .

Integrando-se os dois lados da equação tem-se  $N = K / (1 + e^{a-rt})$ , onde  $a$  é a constante de integração. Quando  $N$  é plotado graficamente ao longo do tempo  $t$ , obtém-se um formato de curva sigmóide (ou curva “S”).

Exemplos de aplicações dos modelos supra citados, com gráficos apresentados e discutidos no contexto dessas aplicações e, assim, facilitando seu entendimento, estão disponíveis nas referências já citadas para um maior aprofundamento (CAMPBELL; MADDEN, 1990; MADDEN et al., 2007; PLANK, 1963). Outros exemplos de aplicações podem ser encontrados em Santos et al. (2008) e Skelsey et al. (2013). Detalhamento de considerações matemáticas es-

tão disponíveis em Zill (2003) e Bassanezi e Ferreira Junior (1988).

Para aplicações em epidemiologia, o modelo logístico que apresenta a curva “S” é dado pela taxa de aumento da doença e assume as hipóteses de proporcionalidade à quantidade de doença (N) e à quantidade de tecido sadio disponível, (1-N). Assim, em linguagem matemática, o modelo é apresentado por:

$$dN/dt = rN (1 - N)$$

onde :

r = taxa aparente de infecção ou taxa de aumento específica do modelo Logístico;

N = quantidade de doença;

(1-N) = proporção de tecido sadio;

Mas  $dN/dt = rN (1 - N) \Rightarrow dN/ N (1 - N) = r dt$  e, integrando-se ambos os lados desta equação diferencial que descreve o modelo temos  $N = 1 / [(1/a).\exp(-rt) + 1]$ . Utilizou-se “exp” no texto acima para simbolizar a constante matemática neperiana (“e”), visando facilitar a representação de  $e^b$  em fórmulas maiores. Assim,  $e^b$  passou a ser denotado no texto por “exp(b)”.

Quando  $N(0) = N_0$  (condição inicial) tem-se  $N(0) = 1 / [(1/a).\exp(-r.0) + 1] = 1 / [(1/a) + 1]$ , resultando em  $N_0 = 1 / [(1/a) + 1] \Rightarrow [ N_0 / (1 - N_0) ] = a$

Aplicando o valor de a na equação de N acima descrita, tem-se que:

$$N = 1 / [ (1/a) \exp(-rt) + 1 ] = 1 / [ ( (1 - N_0)/N_0 ) . \exp(-rt) + 1 ]$$

Se  $B = [(1 - N_0)/N_0]$ , apresenta-se outra forma comumente citada na literatura para N, dado por:  $N = ( 1 / (1 + B . e^{-rt}) )$

A curva de  $N$ , obtida ao longo do tempo, tem formato sigmóide (curva “S”).

É importante destacar que nem todo crescimento de populações, sejam as encontradas em campo ou em condições controladas de laboratório, que apresentem o padrão da curva sigmóide (curva “S”) obedecem, necessariamente, às premissas biológicas do modelo logístico proposto por Verhulst (ODUM, 2004), motivo pelo qual são muitas vezes representados por modelos matemáticos modificados a partir deste, ou por outros modelos matemáticos logísticos específicos.

As considerações acima detalhadas nos modelos anteriores ressaltam algumas observações conceituais importantes que foram destacadas neste capítulo, o que não se poderá realizar para os demais modelos em função da grande disponibilidade existentes.

O modelo de Gompertz foi proposto em 1825 e responde à hipótese de que em pequenos intervalos de tempo, constante, a população de um organismo (ou patógeno) pode perder iguais proporções na sua capacidade de aumento. Assim, a taxa absoluta de aumento da população (ou doença) é dada por:

$$dN/dt = r_G N (-\ln(N))$$

onde:

$r_G$  = taxa aparente de infecção ou taxa de aumento específica do modelo de Gompertz;

$N$  = quantidade de doença.

De  $dN/dt = r_G N (-\ln(N))$ , tem-se que  $dN/dt = r_G N (\ln(1) - \ln(N))$ . Assim, além dessa outra forma de representação da taxa absoluta de aumento da doença, dela decorre  $dN/dt = r_G N \ln(1/N)$

A solução é encontrada integrando-se a taxa absoluta de aumento da doença, obtendo-se  $N = \exp(-B \cdot (\exp(-r_g t)))$ , onde:  $B = -\ln N_0$ , onde  $\exp(b) = e^b$

Acrescenta-se ainda que aprofundamentos matemáticos sobre os modelos de Malthus, Verhulst e Gompertz também estão disponíveis na literatura técnica apresentando exemplos com respectivos gráficos no contexto da aplicação (BASSANEZI; FERREIRA JUNIOR, 1988; BERGER, 1981; ODUM, 2004; ZILL, 2003).

O modelo Monomolecular, também conhecido como modelo exponencial negativa ou modelo de Mitscherlich, foi proposto em 1909 e pode ser representado pela taxa de aumento efetivo da população (ou taxa de aumento da doença) proporcional à quantidade de inóculo inicial e à taxa de progresso da doença,  $k$ , também referenciada por " $r_m$ ". O modelo apresenta dependência da quantidade de tecido aparentemente sadio (sem sintomas) disponível. Assim, matematicamente, o modelo é descrito pela taxa absoluta de aumento da doença apresentada por:

$$dN/dt = r_m (1-N)$$

onde:

$r_m$  = taxa de progresso da doença ou taxa de aumento específica da doença para o modelo monomolecular;

$(1-N)$  = quantidade de tecido sem sintomas (sadio)

Tem-se, portanto, que:  $dN/dt = r_m (1-N) \Rightarrow dN/(1-N) = r_m \cdot dt$

A solução é dada por  $N = 1 - B \exp(-r_m t)$ , onde  $B = (1 - N_0)$

Maiores detalhes sobre os modelos matemáticos determinísticos já comentados anteriormente, bem como sobre outros modelos não discutidos, tais como o de Weibull e o log-logístico, o proposto por

Von Bertalanffy-Richards e de comparações entre alguns desses modelos e aplicações para fitopatologia, incluindo apresentações gráficas dos modelos citados em exemplos de aplicações, estão disponíveis em Campbell e Madden (1990), Madden et al. (2007), Odum (2004), Vilcarromero (1996), Bassanezi e Ferreira Junior (1988), Berger (1981) e Plank (1963). Além de considerações conceituais, representações gráficas com as curvas citadas contextualizadas em exemplos de aplicações, estão disponibilizadas nessas fontes, onde outras aplicações igualmente encontram-se disponíveis em Halfeld-Vieira et al. (2008), Leite e Amorim (2002) e Vilcarromero (1996). Acrescenta-se que Vilcarromero (1996) apresentou aplicações conceituais e gráficas detalhadas para *Phytophthora parasitica*, *Phytophthora infestans*, *Sclerotinia minor*, *Cochliobolus sativus*, *Erysiphe graminis*, entre outras.

Contreras-Medina et al. (2009) recentemente apresentaram as tendências do uso de modelagem matemática e simulação para a área de fitopatologia, ressaltando novamente o uso de muitos modelos matemáticos determinísticos aqui mencionados.

Fujinawa (2009) avaliou o progresso da mancha foliar bacteriana em begônias tratadas com diferentes concentrações de agrotóxicos, ajustando às curvas de progresso dessa doença o modelo de Gompertz.

Madden et al. (2007) apresentaram considerações sobre aplicações para dispersão de doenças por modelos matemáticos exponenciais, de Power (conhecido igualmente como modelo de Gregory), Power modificado, entre outros.

Abordagens de modelagens matemáticas estocásticas aplicadas à fitopatologia não são recentes e foram bem expostas por Shaw (1994), que ressaltou a importância da simulação pelo método de Monte Carlo. Porém, ainda são pouco utilizadas em virtude da complexidade envolvida na representação matemática do processo de transmissão da doença. Sgrillo (2010) apresentou aplicações

para avaliações de dispersão de patógenos, enquanto Pinzón et al. (2009) expressou as considerações sobre o uso desses modelos para avaliar interações existentes entre planta e patógeno (*Phytophthora infestans*). Sgrillo e Sgrillo (2003) apresentaram aplicações de modelagem e simulação para a evolução da vassoura-de-bruxa em cacauzeiros da Bahia.

Kermack e McKendrick (1927) mostraram outra abordagem frequentemente utilizada em modelagem epidemiológica, determinando um modelo matemático compartimental representado por um sistema de equações diferenciais ordinárias que consideram as populações em três diferentes estados, ou seja, nos seguintes compartimentos: susceptíveis à doença (S), infectadas (I) e restabelecidos (ou recuperados) (R).

Desse modo, a partir de uma população fixa  $N$ , ou seja,  $N = S(t) + I(t) + R(t)$ , tem-se o seguinte conjunto de equações diferenciais ordinárias:

$$dS/dt = -kIS$$

$$dI/dt = kIS - vI$$

$$dR/dt = vI$$

onde:

$k$  = taxa de contato (considera a chance de contato do suscetível com o infectado)

$kI$  = taxa de transmissão da doença

$kIS$  = taxa de infecção de suscetíveis

$d$  = tempo de permanência com a infecção ou duração da infecção (da infecção até a recuperação do indivíduo)

$v = 1/d$  = velocidade de transição

$vI$  = taxa de recuperação

Soluções analíticas do modelo SIR foram apresentadas por Maliki (2011) e Harko et al. (2014). Maliki (2011) informou considerações sobre o uso do método numérico, isto é, Método de Runge-Kutta para a obtenção de solução numérica.

Esse modelo pressupõe que os indivíduos da população tenham igual probabilidade de contrair a doença, com uma taxa  $k$  e que essa taxa de infecção ou de contato é muito mais rápida que as taxas de nascimentos e mortes, motivos pelos quais esses fatores foram ignorados no modelo (assim, não incorpora a chamada “dinâmica vital”). Maiores considerações teóricas detalhadas (incluindo gráficos e exemplos de aplicações) encontram-se disponíveis em Bassanezi e Ferreira Junior (1988), Zill (2003), Harko et al. (2014) e Maliki (2011).

Outros modelos que utilizaram essa técnica de modelagem considerando equações diferenciais vinculadas, conhecida por “*Linked Differential Equations*” (LDE), foram propostos a partir deste modelo SIR. Alguns incorporaram o tempo de permanência dos indivíduos em um dado estado (ou compartimento) representado por uma variável aleatória com distribuição de probabilidade (uniforme, exponencial, Erlang, entre outras) previamente definida. Citam-se, assim, os seguintes modelos: SIR com nascimento e mortes; SIS com nascimento e mortes; SIRS; SIQS (Q = quarentena); SIQR; SEI (E = indivíduos expostos no período de latência); SEIS; o SEIR; MSIR (M = indivíduos com imunidade passiva recebida da mãe); MSEIR; MSEIRS; entre outros. Maiores detalhes e aprofundamentos sobre esses modelos podem ser encontrados em Harko et al. (2014), Maliki (2011), Kodaira e Passos (2010), Gao e Hethcote (2006), Hethcote et al. (2002, 2005), Gao et al. (1995), Hethcote (1976), entre outros

Modelos matemáticos epidemiológicos compartimentais podem igualmente ser especificamente desenvolvidos para estudos par-

ticulares, incluindo maior nível de detalhamento ou variáveis estocásticas nas representações das interações entre os patógenos, hospedeiros e ambiente (ONSTAD; CARRUTHERS, 1990).

Acrescenta-se ainda o trabalho de Suji et al. (2002) que utilizaram simulação de sistemas desenvolvidos para simular a ocorrência do fungo *Nomuraea rileyi* em populações da lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatalis*, à modelos de fenologia da soja visando subsidiar o manejo da praga.

Alguns pacotes computacionais também se encontram disponíveis para simulações, informações ou obtenção de estimativas, tais como os ComBase e o DMFit, entre outros. Segundo os desenvolvedores, o ComBase utiliza modelos matemáticos para prever a taxa de crescimento de um microrganismo em um dado ambiente. Mais detalhes estão disponíveis em [www.combase.cc](http://www.combase.cc). O DMFit é um pacote computacional que faz uso de macros e do Excel 5 (ou superior) para estimar as taxas de crescimento específicas a partir de dados experimentais com formatos de curvas sigmóides e vem sendo usado para avaliação da dinâmica de crescimento de bactérias. Demais considerações são encontradas em [www.ifr.ac.uk/safety/DMFit](http://www.ifr.ac.uk/safety/DMFit)

Frente ao que foi apresentado nesta seção, vê-se o grande potencial de aplicações dos modelos matemáticos epidemiológicos existentes visando o controle biológico.

### **Modelos e simuladores aplicados aos estudos entomológicos de dinâmica populacional de hospedeiro-bioagente visando o controle biológico**

Modelos matemáticos e simulação de sistemas utilizados em avaliações que subsidiem a representação da dinâmica populacional de insetos, ou aplicações desta última visando o controle biológico

de insetos-pragas no contexto de MIP, não são recentes no Brasil (AMBROSANO et al., 1996; BOTELHO et al., 1999; GAZZONI et al., 1998; PESSOA, 1994; PESSOA et al., 1993, 2011; SUJI, 1994). O uso dessa ferramenta ocorre desde a determinação de parâmetros populacionais até a avaliação direta da dinâmica entre uma ou mais espécies, acontecendo, ou não, tanto a competição intra ou interespecíficas quanto a limitações por alimento.

Vale adicionar que os aspectos conceituais relacionados à modelagem e simulação de sistemas, já salientados em seções anteriores, são igualmente válidos para o alvo de interesse desta seção.

Desse modo, dados empíricos obtidos com o uso do método científico, auxiliam nas estimativas de importantes parâmetros populacionais utilizados na maioria dos modelos matemáticos para esta área de aplicação. Entre alguns desses parâmetros citam-se: a razão sexual ( $r_s$ ), o número de gerações ( $n$ ), tempo de geração ( $G$ ), o número de descendentes ( $d$ ), a resistência do ambiente ( $R_a$  ou  $\Omega$ ), a capacidade inata de aumentar em número ou taxa instantânea (ou intrínseca) de crescimento ( $r_m$ ), a taxa (ou razão) de nascimento ( $b$  ou  $n$ ), a razão de mortalidade ( $d$  ou  $m$ ), a taxa líquida de crescimento ( $R_0$ ), longevidades de machos e de fêmeas, temperatura base de desenvolvimento ( $T_b$ ), constantes térmicas de desenvolvimento, viabilidades entre fases de desenvolvimento, taxa de emigração ( $e$ ), entre outros (CHAGAS; PARRA, 2000; PESSOA et al., 2010; RIBACK; GODOY, 2008; SÁ et al., 2009; SAQUI et al., 2008a, 2008b; STIVANELLI et al., 2009, dentre outros).

Técnicas matemáticas e estatísticas, muitas delas já aplicadas em métodos consagrados na área de entomologia, auxiliam na obtenção desses parâmetros (SILVEIRA NETO et al., 1976). Por exemplo, experimentos conduzidos em laboratório proporcionam a elaboração de tabelas de esperança de vida. Estas tabelas viabilizam a determinação de longevidades e a estimativa de  $R_0$ . Cabe

aqui ressaltar a importância da determinação da longevidade (esperança de vida de uma população inicial ou expectativa de vida média dessa população), muitas vezes confundida ou apresentada equivocadamente nos modelos matemáticos pelo valor da sobrevivência (tempo máximo de vida de indivíduos de uma determinada população inicial) (PESSOA et al., 2010).

Os parâmetros já elencados permitem, por meio de modelos matemáticos, estimar o potencial biótico (PB ou taxa máxima de crescimento populacional ( $\mu_{max}$ )), o potencial de reprodução (Pr) e o crescimento do organismo ao longo de um período de tempo observado, e assim determinar a dinâmica populacional. Outros dados laboratoriais propiciam determinar a capacidade de suporte ou densidade máxima (K ou c) e o tamanho da população ao longo do tempo (N(t)) e, assim, realizar ajustes aos modelos matemáticos.

Vários modelos matemáticos e simuladores encontram-se disponíveis para avaliar a dinâmica populacional hospedeiro-praga. Os modelos matemáticos determinísticos de crescimento exponencial (Modelo de Malthus), o Modelo Logístico (ou Modelo de Verhulst - também chamado Modelo densidade-dependente, dado que possui taxa de crescimento dependente da densidade populacional) ou outros modelos de crescimento logísticos ajustados e de Gompertz, consideram populações de uma única espécie. Esses modelos, algumas vezes, são aplicados para estimar parâmetros necessários para uso em simuladores, como por exemplo para a determinação da resistência ambiental ( $\Omega$ ). Muitas vezes, suscitam a observação de efeitos importantes e não considerados nas análises.

Almeida et al. (2001), por exemplo, apresentaram aplicações de modelo determinístico logístico para mostrar efeitos da deficiência de saturação do ar na mortalidade dos insetos e, portanto, no decorrente número de gerações, em um estudo de caso para *Synthesiomyia nudiseta* (Diptera: Muscidae). Esses autores mostraram

que nem sempre a perda de peso do inseto por evaporação é uma função linear do déficit de saturação e, assim, nem sempre ocorre apenas por influência da saturação. Mostraram, desse modo, que para alguns insetos, *“a taxa de perda de água não é determinada apenas pela temperatura, independente do déficit de saturação”*. Igualmente, provaram as implicações dessa hipótese no método de cálculo da constante térmica de desenvolvimento dos insetos (apresentada em unidades de graus-dias (GD)), outra informação usualmente utilizada em modelos matemáticos para representar a influência da temperatura no tempo de desenvolvimento dos insetos. Assim, novamente, ressalta-se a importância de se conhecer a biologia básica do inseto que é determinante para a escolha ou proposição de métodos e de modelos matemáticos mais fidedignos à realidade.

As aplicações de modelagem matemática para avaliação da interação entre duas espécies foi proposta a partir da análise de interações existentes entre populações de duas ou mais espécies, tais como as que ocorrem por: neutralismo, competição (recurso ou interferência), amensalismo, parasitismo, predação, comensalismo, protocooperação e mutualismo (ODUM, 2004). As interações competitivas resultam de interações negativas que geram competição interespecífica, ou seja, interações ocorridas entre duas populações de espécies, ou mais, seja por recursos alimentares ou físicos, que afetam negativamente seu crescimento, sua sobrevivência e nichos ecológicos. Odum (2004, p.345) ressalta que o entendimento da competição demanda tanto o conhecimento das condições e dos atributos das populações que conduzem à exclusão competitiva, quanto das situações que possibilitam a coexistência de espécies similares (ocorridas nos ecossistemas maduros – estáveis).

Lotka e Volterra propuseram em 1925 e em 1926, respectivamente, modelos matemáticos determinísticos contínuos que, integrados, possibilitaram representar matematicamente as interações interes-

pecíficas existentes entre duas espécies, conhecido por modelo de Lotka-Volterra. Entre essas interações ressaltam-se presa-predador, parasita-hospedeiro e competição (WANGERSKY, 1978). Considerando o modelo de Lotka-Volterra para competição entre duas espécies, temos que:

$$dN_1/dt = r_1 N_1 ( (k_1 - N_1 - \beta_{12} N_2) / k_1 )$$

$$dN_2/dt = r_2 N_2 ( (k_2 - N_2 - \beta_{21} N_1) / k_2 )$$

onde:

$N_i$  = densidade populacional da espécie  $i$  ; onde  $i=1,2$

$B_{ij}$  = efeito inibidor da espécie  $i$  sobre a espécie  $j$  (ou coeficiente de competição); onde  $i=1,2$  e  $j=1,2$

$k_i$  = capacidade de suporte da população  $i$ ; onde  $i=1,2$

$r_i$  = taxa de crescimento da população  $i$ ; onde  $i=1,2$

Na ausência da população competidora ( $N_2=0$ ), tem-se o modelo logístico e a população se estabiliza em  $N_1= k_1$  (capacidade de suporte).

O modelo de Lotka-Volterra mostra que a espécie com maior efeito inibidor sobre a outra tende a eliminá-la. Porém, pode-se determinar condições de coexistência à exclusão, analisando os atributos, parâmetros do modelo, mecanismos de controle e característica habitat dos nichos das espécies (ODUM, 2004).

Quando avaliada sob o ponto de vista de predação e parasitismo, as interações negativas entre as duas espécies resultam em efeitos negativos no crescimento e na sobrevivência das populações. Ao aplicar-se o modelo de Lotka-Volterra percebem-se oscilações constantes e não amortecidas, resultantes do aparente caráter pe-

riódico da interação entre as populações. A partir da percepção de que o crescimento da população do predador diminui gradativamente com a redução da população da presa, que assim reflete a quantidade desta última na população do predador, vê-se a necessidade de inclusão de termos de segunda ordem na equação diferencial, inicialmente proposta para atenuação da oscilação. Desse modo, resulta um sistema de equações diferenciais não lineares, que é conhecido por modelo presa-predador de Lotka-Volterra:

$$dN_1/dt = -a N_1 + b N_1 N_2 = N_1 (-a + b N_2)$$

$$dN_2/dt = d N_2 - c N_1 N_2 = N_2 (d - c N_1)$$

onde:

$N_i$  = densidade populacional da espécie  $i$ ; onde  $i=1,2$

$a, b, c$  e  $d$  = constantes positivas

Soluções analíticas para aplicações do modelo presa-predador de Lotka-Volterra foram apresentadas de forma detalhada por Bevilacqua et al. (2003). Molter e Rafikov (2011) apresentaram soluções para mecanismo de controle, utilizando o modelo de Lotka-Volterra com duas presas e um predador, utilizando o método das Equações de Riccati Dependentes do Estado (SDRE). Outras informações conceituais podem ser encontradas em Zill (2003) e em Bassanezi e Ferreira Junior (1988), assim como outros modelos matemáticos igualmente úteis para outras aplicações, uma vez que não se tem como esgotá-los em apenas um capítulo.

A seguir, destaca-se algumas das aplicações de modelagem matemática e simulação de sistemas para controle biológico de insetos-pragas agrícolas.

Pessoa (1994) desenvolveu um simulador numérico para avaliar a dinâmica populacional do bicudo-do-algodoeiro *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae) considerando ações por controle químico seletivo e por controle biológico por *Bracon vulgaris* (Hymenoptera: Braconidae) visando identificar estratégias de MIP para a região de Campinas, SP. O simulador considerou como sistema principal os fatores bióticos e os fatores físicos do meio ambiente. Os fatores bióticos foram representados por três modelos matemáticos dinâmicos discretos compartimentais *cohort*, elaborados a partir da observação biológica do sistema praga-planta-bio-agente. O modelo matemático da planta do algodão contemplou diferentes estágios e estádios (subestágios ou ínstars) de desenvolvimento, em unidade de graus-dias: botões florais (cinco estádios), flores e frutos verdes (quatro estádios). Desse modo, possibilitou avaliar ataques preferenciais da praga para alimentação e oviposição nessas estruturas em função do tamanho da estrutura frutífera e de sua disponibilidade na planta para ataque. Permitiu, também, avaliar separadamente os adultos emergentes de botões florais e de frutos verdes e, conseqüentemente, as perdas dessas estruturas por ataque do inseto. Além disso, avaliava a queda de flores, botões pequenos e frutos jovens por influência de pluviosidade diária.

O modelo matemático do bicudo considerou seus principais estágios (e estádios) de desenvolvimento, tanto em botão floral quanto em frutos verdes: ovo, larva (considerando três estádios de desenvolvimento), pupa, fêmea pré-ovipositora, fêmea ativa e macho. Os diferentes estádios larvais foram inseridos em função da preferência do ectoparasita larval para oviposição. O modelo matemático de *B. vulgaris* contemplou suas diferentes fases de desenvolvimento: ovo, larva (considerando quatro estádios larvais), pupa, fêmea e macho. Os fatores físicos do meio ambiente considerados pelo simulador foram temperatura máxima, temperatura mínima e plu-

viosidade, todos diários (apresentados em °C e mm). O simulador disponibilizou um gerador aleatório desses dados por meio de distribuições de probabilidade mensais, determinadas para a região de Campinas/SP, tomando-se por base registros diários disponibilizados pela Seção de Climatologia do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) para um período de dez anos consecutivos.

O simulador foi desenvolvido em linguagem C e possibilitou avaliar a dinâmica populacional do bicudo-do-algodoeiro sob estratégias de controle químico seletivo e de controle biológico por *B. vulgaris*, avaliadas separadamente. Quando a estratégia de controle químico seletivo era selecionada, e considerando o mecanismo de encadeamento direto, desenvolvido e integrado ao ambiente do simulador, um sistema especialista monitorava automaticamente as estruturas frutíferas danificadas, acumulando-as para verificar se o Limiar Econômico (LE) e o Nível de Dano Econômico (NDE) eram atingidos durante a simulação, considerando o passo diário de tempo constante. Desse modo, esse sistema especialista indicava quando as baterias de controle químico seletivo, em conformidade com a orientação pelo programa de MIP escolhido eram acionadas, levando em conta a redução diária do efeito residual da aplicação entre uma bateria e outra. A opção de biocontrole, quando selecionada pelo usuário, era avaliada considerando o parasitismo de larvas do bicudo por *B. vulgaris*, cujas datas de liberações em diferentes períodos e quantidades populacionais do bioagente eram previamente determinadas no cenário a ser simulado. O simulador contabilizou as estruturas caídas naturalmente e as decorrentes de ataque da praga, assim como os fatores de mortalidade da praga: por parasitismo - quando acionado o controle biológico; por ação do inseticida - quando acionado o controle químico seletivo; por mortalidade natural; e entre fases de desenvolvimento. As fases adultas e as imaturas do bicudo (apresentadas na saída do simulador como ovo, larva e pupa) foram igualmente contabilizadas, distinguindo-se as

fases imaturas que ocorriam em botões e em frutos verdes. Os dados diários simulados foram armazenados em arquivos (do bicudo, do ambiente, do parasitoide, e recomendações) possibilitando recuperar todas as informações diárias processadas durante a simulação realizada. Estas informações foram utilizadas em relatórios de saída do simulador que permitiam que o usuário selecionasse, a priori, se os resultados seriam apresentados na forma diária, de três em três dias ou semanal.

Os resultados apresentados pelo uso do simulador em cenários avaliados por Pessoa (1994) indicaram a capacidade de carregamento da planta do algodoeiro no cenário observando a ausência do bicudo, assim como o ataque devastador do inseto em cenário considerando sua presença sem controle; ambos confirmando com dados de campo. Em cenários simulando a população do parasita usualmente encontrada em campo no final do ciclo da planta, Pessoa (1994) também constatou por simulação que não seriam suficientes para o controle da praga corroborando com os dados de campo.

Cenários simulando diferentes quantidades populacionais de *B. vulgaris*, em datas de entrada diferenciadas na lavoura, também foram avaliados pelo mesmo autor. A partir deles, verificaram-se as populações do parasita e a data de liberação em campo que assegurariam a produção da cultura concomitantemente à maior porcentagem de parasitismo, ao equilíbrio entre as populações dos insetos e à presença do bicudo em níveis aceitáveis à produção comercial. Os resultados obtidos estiveram em conformidade com aqueles conseguidos em lavouras na região. Mais detalhes podem ser verificados em Pessoa (1994) e Pessoa et al. (1995).

Suji (1994) também avaliou, por modelagem matemática e simulação, o padrão de distribuição de cigarrinha-das-pastagens *Deois flavopicta* (Homoptera: Cercopidae), contribuindo para a tomada de decisão do controle dessa importante praga das pastagens.

Abordagens de modelagem matemática determinísticas compartimentais foram apresentadas por Ambrosano et al. (1996) para avaliação da dinâmica da broca-da-cana *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidoptera: Pyralidae), inseto igualmente considerado praga de importância para o cultivo de sorgo, sob influência do parasitoide *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) visando controle biológico para cana-de-açúcar. Os autores apresentaram os modelos conceituais e os modelos matemáticos, estes considerando um lote de cana-planta de ano e meio, diferentes estágios e estádios de desenvolvimento de *T. galloi* e de *D. saccharalis*, imigração e emigração de adultos, entre outros. O simulador, considerando esses modelos matemáticos, foi codificado em linguagem de programação Pascal e programa Harvard Graphics para a elaboração das saídas gráficas. Os resultados apresentados possibilitaram identificar a porcentagem de mortalidade ocorrida nas diferentes fases de desenvolvimento no decorrer de um ano (considerando resultados mensais), bem como a duração do ciclo ovo-adulto e eficiência do parasitismo.

Gazzoni et al. (1998) também apresentaram um simulador para avaliar o inseto desfolhador da soja chamado lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatilis* Hübner (1818). O modelo principal proposto pelos autores contempla sete submodelos (inseto, soja, migração de mariposas, aplicação de inseticida, predação e parasitismo, entomopatógenos e ambiente). O modelo da lagarta contemplou seu ciclo de vida, em unidades de graus-dias. O modelo da soja foi representado pelo Índice de Área Foliar, calculado a partir de uma função exponencial cúbica ajustada por Gazzoni e Moscardi (1998) para descrever as relações entre os dias após o plantio e o Índice de Área Foliar da soja. Também foram consideradas influências da migração e do fungo entomopatógeno *Nomuraea rileyi*. O modelo do ambiente considerou temperaturas máxima e mínima. O simulador foi desenvolvido em linguagem Fortran IV.

Aplicações de modelagem matemática determinística contínua também foram citadas em trabalhos que se propuseram a avaliar por simulação, utilizando programação MatLab, estratégias de controle biológico da praga exótica, nativa da Ásia, denominada larva-minadora-da-folha-dos-citros *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae), pelos parasitoides *Galeopsomyia fausta* LaSalle e Peña (Hymenoptera: Eulophidae) e *Ageniaspis citricola* Logvinovskaya (Hymenoptera: Encyrtidae) (TERNES et al., 2005; TERNES; YANG, 2002). A larva minadora é uma das principais pragas de citros, uma vez que além dos danos diretos provocados pelas galerias que promovem ao se alimentar, causando queda foliar principalmente em brotações jovens, também favorece a entrada e o desenvolvimento de fitopatógenos pelos tecidos das folhas lesionadas, como *Xanthomonas axonopodis* pv *citri*, a bactéria da doença conhecida por cancro cítrico (CHAGAS et al., 2001; CHAGAS; PARRA, 2000).

Considerando que o sucesso da criação do sistema hospedeiro-bioagente de controle depende do conhecimento da sua dinâmica populacional em diferentes cenários de criação e da avaliação do potencial de parasitismo no hospedeiro, as estratégias de simulação também são importantes no contexto de laboratório de criação visando a criação massal do bioagente de controle.

Por isso, Pessoa et al. (2008, 2007) desenvolveram um simulador, em linguagem MatLab, fundamentado em modelagem matemática dinâmica discreta compartimental para avaliar a dinâmica populacional da praga exótica do eucalipto, originária da Austrália, chamada psilídeo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Psyllidae) em condições de laboratório de criação. Esse estudo foi realizado para identificar populações da praga que não comprometessem a capacidade de suporte das gaiolas de criação em condições controladas de laboratório, visando garantir a sua criação massal para as futuras criações de seus potenciais bioagentes de controle.

A partir desse estudo, foi possível identificar o período de aparecimento de estágios ninfais preferenciais ao parasitismo pelo parasitoide exótico *Psyllaephagus bliteus* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae) de acordo com os diferentes cenários de formação de gaiolas de criação, levando em conta as quantidades populacionais diferenciadas de fêmeas e de machos do psílideo. Esses períodos seriam os mais favoráveis, portanto, à introdução de populações de fêmeas e machos desse potencial agente de controle nas gaiolas de criação em condição de laboratório.

Posteriormente, o modelo matemático do parasitoide foi integrado ao simulador do psílideo-de-concha contemplando suas preferências pelos estádios ninfais do psílideo (PESSOA et al., 2009). Esse estudo possibilitou avaliar a eficiência do parasitismo de *P. bliteus* em ninfas de *G. brimblecombei*, em condições controladas de gaiola de criação, considerando diferentes quantidades de machos e fêmeas tanto do psílideo, para a composição inicial da gaiola, quanto para a posterior introdução de machos e fêmeas do parasitoide na mesma gaiola, em diferentes períodos de tempo. O modelo matemático do parasitoide não descreveu detalhadamente a sua fase imatura (ovo, larva e pupa), motivo pelo qual esta fase foi considerada como uma única fase de desenvolvimento (“fase imatura”), como também considerou sua partenogênese como arrenótoca facultativa - únicas informações biológicas fundamentadas em métodos científicos existentes até o momento de sua elaboração.

Os resultados obtidos por simulação, realizada sem o parasitoide e considerando diferentes cenários iniciais de formação das gaiolas por machos e fêmeas do psílideo, sugeriram que a presença de ninfas do psílideo, em estádios preferenciais à oviposição pelo parasitoide, ocorreria no intervalo do 16° e 21° dias após a formação da gaiola (Pessoa et al. 2008). Diferentes cenários foram avaliados posteriormente, considerando a interação praga-parasitoide. Neles, quantidades populacionais distintas de machos e fêmeas do psílí-

deo foram levadas em conta, tanto na formação inicial da gaiola com a praga, quanto na posterior introdução (em datas alternativas) de diferentes quantidades populacionais de machos e fêmeas do parasitoide na mesma gaiola.

A partir das respostas obtidas, identificou-se que o melhor índice de parasitismo ocorreu no cenário considerando a formação inicial da gaiola contendo 20 fêmeas e 30 machos de *G. brimblecombei* e posterior introdução de 15 fêmeas e 10 machos de *P. bliteus* no 17º dia após a formação inicial da gaiola, cenário este onde se obteve o maior índice de parasitismo acumulado em ninfas. Esta informação indicou a melhor forma de realizar a criação de laboratório visando disponibilizar a maior população de parasitoides para pesquisa ou para liberações em campo (PESSOA et al., 2009).

Criações em gaiolas com populações diferenciadas e avaliações de longevidades de macho e fêmeas de *G. brimblecombei* em condição de laboratório subsidiaram refinamentos posteriores do modelo matemático proposto, cuja validação está em curso. Apesar de tentativas iniciadas, ainda é lacuna a informação biológica mais detalhada sobre a fase imatura de *P. bliteus*. Novas pesquisas em condições de gaiolas de criação em laboratório estão previstas para validar os resultados obtidos nas simulações praga-parasitoide, e para detalhar melhor os dados biológicos representativos de particularidades dos insetos para serem incorporados aos seus respectivos modelos matemáticos.

Lazarin et al. (2011a, 2011b) consideraram modelagem matemática dinâmica discreta compartimental e simulação numérica para avaliar a dinâmica de outra séria praga exótica do eucalipto, também de origem Australiana, denominada percevejo-bronzeado *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero e Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) em condição controlada de laboratório de criação. Estes trabalhos abordaram o desenvolvimento do modelo matemático do

inseto, inicialmente somente em *Eucalyptus camaldulensis* (LAZARIN et al., 2011a) e, posteriormente, em três diferentes espécies de eucalipto, a saber: *E. camaldulensis*, *E. urophylla* e *E. grandis* (LAZARIN et al., 2011b) em gaiola de criação.

O simulador foi desenvolvido em linguagem MatLab e possibilitou, através dos cenários avaliados, identificar períodos e condições mais favoráveis à criação massal da praga, necessária para a posterior avaliação da eficiência do controle biológico pelo parasitoide exótico da praga *Cleruchoides noackae* Lin e Huber (Hymenoptera: Mymaridae), também de origem Australiana. A elaboração de cada cenário foi definida pela escolha da variedade de eucalipto, quantidades iniciais de fêmeas e de machos de *T. peregrinus*, utilizadas para a formação inicial da gaiola, e período de simulação (em dias). Foram disponibilizadas saídas gráficas considerando as quantidades de indivíduos do inseto em cada estágio. A partir delas, identificaram-se os períodos de maior disponibilidade de ovos (alvo de ataque do parasitoide *C. noackae*) e o momento em que as capacidades de suporte da gaiola foram atingidas, dependendo das quantidades de machos e fêmeas inicialmente considerados.

Assim, a partir dos estudos de Lazarin et al. (2011a, 2011b) foi possível identificar em que espécies de eucalipto e em que períodos ocorreram as maiores disponibilidades de ovos da praga a partir de cenários diferenciando as quantidades populacionais iniciais de machos e fêmeas de *T. peregrinus*. Os resultados obtidos indicaram *E. urophylla* e *E. grandis* como sendo as espécies florestais mais adequadas para a criação da praga visando a produção de ovos para o parasitoide. Nestas espécies, os períodos de maior produção de ovos ocorreram a partir do 23° e 25° dias, em cenários de *E. urophylla* e *E. grandis* respectivamente, após o estabelecimento das gaiolas. O modelo matemático de *C. noackae* não foi elaborado por falta de informações biológicas.

Foram utilizadas simulações numéricas para avaliar a dinâmica populacional de *Chrysomya albiceps* Wiedemann (Diptera: Calliphoridae). Esse inseto necrófago exótico, de grande importância médico-sanitária forense, causou desequilíbrios na população de *Cochliomyia macellaria* Fabricius, espécie nativa das Américas, por ser predador de larvas de outros dípteros (AGUIAR-COELHO et al., 1995; ESTRADA et al., 2009; RIBACK; GODOY, 2008; ROSA et al., 2011). Os autores apresentaram estudos laboratoriais, avaliações de interferências no potencial biótico de adultos, análises de taxas de fecundidade, avaliação do desenvolvimento e de sobrevivência, bem como os modelos matemáticos estruturados por estágios, considerando a influência da densidade populacional e canibalismo nos estágios imaturos. Embora o alvo não tenha sido o controle biológico de pragas agrícolas, essas informações são imprescindíveis para avaliações da interferência de pragas exóticas no ambiente.

Modelos estocásticos também estão disponíveis na literatura para o acompanhamento da dinâmica populacional de insetos vetores de doenças, cujo método pode igualmente ser útil em aplicações para entomologia agrícola. Otero et al. (2006) apresentaram modelagem estocástica não linear (ou estado dependente) fazendo uso de técnicas de cadeia de Markov. Os mesmos autores compararam o resultado obtido por modelo matemático determinístico compartimental com o obtido pela modelagem estocástica.

Não se pretendeu aqui esgotar todas as aplicações existentes, motivo pelo qual várias delas estão disponíveis na literatura técnica.

## **Dificuldades**

De acordo com o que foi apresentado neste capítulo, percebe-se a forte dependência da modelagem matemática e da simulação computacional à existência de dados básicos que relatem o conhecimen-

to atual existente sobre a bioecologia de pragas agrícolas e de seus potenciais bioagentes de controle, no contexto do método científico.

Nesse sentido, informações detalhadas sobre os ciclos de vida da praga e do seu bioagente de controle, bem como as fases de desenvolvimento, suas viabilidades e tempo de desenvolvimento, formas de reprodução, razão sexual, preferências alimentares e reprodutivas, longevidades de machos e fêmeas, mobilidade, resistência ao ambiente, entre outras que representem tanto a bioecologia da praga quanto do seu potencial bioagente são imprescindíveis para desenvolvimento e/ou refinamentos de propostas por modelagem matemática e simulação de sistemas. A dificuldade na obtenção dessas informações impede o estudo de formas de ataque e danos decorrentes de maneira mais próxima à realidade, podendo até mesmo invalidar os resultados obtidos.

## **Conclusão**

Este capítulo apresentou considerações sobre modelagem matemática e simulação de sistemas, enfatizando pontos importantes a serem observados tanto para a utilização quanto para o desenvolvimento dessas ferramentas visando o controle biológico de pragas.

Alguns modelos e aplicações conduzidas para a avaliação da dinâmica de pragas em ambiente brasileiro foram relatados para destacar a importância dessas técnicas na definição de estratégias de controle, em condição de laboratório ou de campo. Foram destacadas diferentes formas de aplicação dos conceitos aqui abordados e a evolução em termos de aplicações, visando fomentar inediticidade e atenção ao comportamento biológico nas novas formulações.

A ausência de informações biológicas e o uso equivocado de informações já disponibilizadas na literatura técnico-científica ou de

modelos já existentes (cujos pressupostos não são válidos para as novas aplicações pretendidas) são alguns obstáculos à proposição correta e à eficácia do uso de modelagem matemática e simulação em aplicações de controle biológico. Cabe ressaltar que esses mesmos equívocos ocorrem quando se tentam impor condições que não se ajustam à realidade biológica as propostas de modelagem matemática, apenas para poder fazer uso de modelos já consagrados na literatura técnica. Vê-se, desse modo, a necessidade de trabalho multidisciplinar efetivamente integrado e focado em objetivos comuns de modelagem para que as propostas surtam a eficácia desejada.

Pretende-se aqui, não assustar ainda mais os já receosos ou avessos às aplicações matemáticas, mas estimular a entender a matemática aplicada computacional como apenas mais uma área a tentar contribuir com o sucesso das propostas de controle biológico de pragas do nosso país.

## Referências

- AGUIAR-COELHO, V. M.; QUEIROZ, M. M. C.; MILWARD-DE-AZEVEDO, E. M. V. Associações entre larvas de *Cochliomyia macellaria* (Fabricius) e *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera, Calliphoridae) em condições experimentais. **Revista Brasileira de Zoologia**, São Paulo, v. 12, n. 4, p. 983-990, 1995.
- ALEONI, B.; NAKANO, O. Estudos visando o manejo da cochonilha “escama farinha” em pomar de citros. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 10, n. 2, p. 399-444, 1989.
- ALMEIDA, J. R.; OLIVEIRA, S. G.; BORGES, I. L.; D’ALMEIDA, J. M. Application of deterministic model of isothermals for population dynamics of *Synthesiomyia nudiseta* (Diptera, Muscidae). **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 61, n. 1, p. 141-145, 2001.
- ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. 1163 p.

AMBROSANO, G. M. B.; STIMAC, J. L.; SILVEIRA-NETO, S.; IGUE, T.; NAGAI, V. Modelo matemático para simulação do controle biológico da broca-da-cana com o parasitoide *Trichogramma galloi*: I. Modelos conceituais. **Bragantia**, Campinas, v. 55, n. 2, p. 371-382, 1996.

BAJWA, W. I.; KOGAN, M. Compendium of IPM definitions (CID): what is IPM and how is it defined in the worldwide literature? Corvallis: Oregon State University, Integrated Plant Protection Center, 2002. 19 p.

BARROSO, L. C.; BARROSO, M. M. A.; CAMPOS FILHO, F. F.; CARVALHO, M. L. B.; MAIA, M. L. **Cálculo numérico**: com aplicações. São Paulo: Harbra, 1987. 367 p.

BASSANEZI, R. C.; FERREIRA JUNIOR, W. C. **Equações diferenciais com aplicações**. São Paulo: Harbra, 1988. 572 p.

BERGER, R. D. Comparison of the Gompertz and logistic equations to describe plant disease progress. **Phytopathology**, St Paul, v. 71, n. 7, p. 716-719, 1981.

BEVILACQUA, J. S.; RAFKOV, M.; GUEDES, C. L. **Modelagem em biomatemática**. São José do Rio Preto: [s.n.], 2003. 94 p. Disponível em: <[http://www.ime.usp.br/~joyce/Mini\\_Biomaat\\_julho03\\_pdf.pdf](http://www.ime.usp.br/~joyce/Mini_Biomaat_julho03_pdf.pdf)>. Acesso em: 5 mar. 2014.

BOLLER, E. F.; AVILLA, J.; GENDRIER, J. P.; JORG, E.; MALAVOLTA, C. (Ed.). Integrated production in Europe: 20 years after the Declaration of Ovrnaz. **IOBC/WPRS Bulletin**, [S.l.], v. 21, n. 1, p. 1-33, 1998.

BOTELHO, P. S. M.; PARRA, J. R. P.; CHAGAS NETO, J. F.; OLIVEIRA, C. P. B. Associação do parasitoide de ovos *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e do parasitoide larval *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) no controle de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 28, n. 3, p. 491-496, 1999.

BUENO, A. F.; BATISTELA, M. J.; MOSCARDI, F. **Níveis de desfolha tolerados na cultura da soja sem a ocorrência de prejuízos à produtividade**: nível de ação e o MIP soja. Londrina: Embrapa Soja, 2010. 12 p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 79).

BUENO, R. C. O. F.; BUENO, A. F.; MOSCARDI, F.; PARRA, J. R. P.; HOFFMANN-CAMPO, C. B. Lepidopteran larva consumption of soybean foliage: basis for developing multiple-species economic thresholds for pest management decisions. **Pest Management Science**, West Sussex, v. 67, p. 170-174, 2011a.

BUENO, R. C. O. F.; PARRA, J. R. P.; FREITAS BUENO, A. *Trichogramma pretiosum* parasitism and dispersal capacity: a basis for developing biological control programs for soybean caterpillars. **Bulletin of Entomological Research**, v. 102, n. 1, p. 1-8, 2011b.

CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: J. Willey, 1990. 532 p.

CAMPOS, H. **Estatística experimental não-paramétrica**. Piracicaba: ESALQ, Departamento de Estatística, 1979. 343 p.

CARVALHO, R. P. L. **Danos, flutuação da população, controle e comportamento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) e susceptibilidade de diferentes genótipos de milho, em condições de campo**. 1970. 170 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

CASTRO SOBRINHO, A. S. **Introdução ao método dos elementos finitos**. Rio de Janeiro: Ciência Moderna, 2006. 403 p.

CAVENAGUE, C. C. Mais protocolos estão por vir para atender os compradores mais exigentes. **Hortifruti Brasil**, Piracicaba, v. 4, n. 39, p. 27-28, 2005.

CAVICCHIOLI, B.; PUPIN, F.; BOTEON, M. Certificação: passaporte para os mercados mais exigentes. **Hortifruti Brasil**, Piracicaba, v. 4, n. 39, p. 8-15, 2005.

CHAGAS, M. C. M.; PARRA, J. R. P. *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae): técnica de criação e biologia em diferentes temperaturas. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 29, n. 2, p. 227-235, 2000.

CHAGAS, M. C. M.; PARRA, J. R. P.; NAMEKATA, T.; HARTUNG, J. S.; YAMAMOTO, P. *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae): and Its relationship with the citrus Canker Bacterium *Xanthomonas axonopodis* pv *citri* in Brazil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 55-63, 2001.

CONTRERAS-MEDINA, L. M.; TORRES-PACHECO, I.; GUEVARA-GONZÁLEZ, R. G.; ROMERO-TRONCOSO, R. J.; TEROL-VILLALOBOS, I. R.; OSORNIO-RIOS, R. A. Mathematical modeling tendencies in plant pathology. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 8, n. 25, p. 7399-7408, 2009.

CORRÊA-FERREIRA, B. S.; PANIZZI, A. R. **Percevejos da soja e seu manejo**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1999. 45 p. (EMBRAPA-CNPSo. Circular Técnica, 24).

CROCOMO, W. B. (Org.) **Manejo integrado de pragas**. Botucatu: Ed. da UNESP, 1990. 385 p.

CRUZ, I. Manejo integrado de pragas de milho com ênfase para o controle biológico. In: CICLO DE PALESTRAS SOBRE O CONTROLE BIOLÓGICO DE PRAGAS, 4., 1995, Campinas. **Anais...** Campinas: SEB: Instituto Biológico, 1995. p. 48-92.

DOURADO NETO, D.; TERUEL, D. A.; REICHARDT, K.; NIELSEN, D. R.; FRIZZONE, J. A.; BACCHI, O. O. S. Principles of crop modeling and simulation: I. uses of mathematical models in agricultural science. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 55, n. especial, p. 46-50, 1998.

ESTRADA, D. A.; GRELLA, M. D.; THYSSEN, P. J.; LINHARES, A. X. Taxa de desenvolvimento de *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) em dieta artificial acrescida de tecido animal para uso forense. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 38, n. 2 p. 203-207. 2009.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V. Determinação do Nível de Dano Econômico de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae) em *Phaseolus vulgaris* L. cv Pérola. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 5, p. 632-637, 2004.

FERNANDES, E. N.; PESSOA, M. C. P. Y. Sistemas de apoio à decisão na gestão ambiental: sistemas especialistas na agropecuária brasileira. In: GOMES, M. A. F.; PESSOA, M. C. P. Y. (Ed.). **Planejamento ambiental do espaço rural com ênfase para microbacias hidrográficas: manejo de recurso hídricos, ferramentas computacionais e educação ambiental**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2010. Cap. 5, p. 119-145.

FERRIS, H. Basic modeling strategies for nematode management. In: BARKER, K.R.; CARTER, C.C.; SASSER, J. N. (Ed.). **An advanced treatise on Meloidogyne**: v. 2, methodology. Raleigh: North Carolina State University, 1985. p. 205-216.

FIGUEIREDO, M. L. C.; CRUZ, I.; DELLA LUCIA, T. M. C. Controle integrado de *Spodoptera frugiperda* (Smith & Abbott) utilizando-se o parasitoide *Telenomus remus* Nixon. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 34, n. 11, p. 1975-1982, 1999.

FIÚZA, L. M. *Bacillus thuringiensis* no controle de insetos: diversidade, especificidade e impacto ambiental. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 8., 2003, São Pedro, SP. **Resumos...** Piracicaba: Sociedade Entomológica do Brasil, 2003. p. 47.

FLORES, M. X.; SÁ, L. A. N.; MORAES, G. J. Controle biológico: importância econômica e social. **A Lavoura**, Rio de Janeiro, p. 6-9, 1992. Encarte especial: Manual de controle biológico, p. 6-9.

FUJINAWA, M. F. **Caracterização de isolados de *Xanthomonas axonopodis* pv. *begoniae* e avaliação de agrotóxicos no controle da mancha foliar bacteriana em begônia**. 2009. 63 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

GAO, L.; HETHCOTE, H. Simulations of rubella vaccination strategies in China. **Mathematical Biosciences**, New York, v. 202, n. 2, p. 371-385, 2006.

GAO, L. Q.; MENA-LORCA, J.; HETHCOTE, H. W. Four SEI endemic models with periodicity and separatrixes. **Mathematical Biosciences**, New York, v. 128, n. 1-2, p. 157-184, 1995.

GAZZONI, D. L. **Manejo de pragas da soja: uma abordagem histórica**. Londrina: Embrapa-CNPSo, 1994. 72 p. (EMBRAPA-CNPSo. Documentos, 78).

GAZZONI, D. L.; MOSCARDI, F. Effect of defoliation levels on recovery of leaf area, on yield and agronomic traits of soybeans. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 34, n. 4, p. 411-424, 1998.

GAZZONI, D. L.; PEDROSO JUNIOR, M.; GARAGORRY, F.; MOSCARDI, F. Mathematical simulation model of the velvetbean caterpillar. I.: description of the model. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 33, n. 4, 1998.

GRAVENA, S. Manejo ecológico de pragas no pomar cítrico. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 11, n. 1, p. 205-225, 1990.

HABERMAN, R. **Mathematical models: mechanical vibrations, population dynamics and traffic flows**. Philadelphia: SIAM, 1998. 402 p.

HABIB, M. E. M. Utilização de bactérias no controle de dípteros de importância médica. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 84, p. 31-34, 1989. Suplemento III.

HABIB, M. E. M.; ANDRADE, C. F. S. Bactérias entomopatogênicas. In: ALVES, S. B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. São Paulo: FEALQ, 1998. p. 383-446.

HALFELD-VIEIRA, B. A.; ROMERO, R. S.; MOUNTEER, A. Eficiência de bactérias do filo plano no controle de doenças da parte aérea do tomateiro em condições de campo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 34, n. 1, p. 86-87, 2008.

HARKO, T.; LOBO, F. S. N.; MAK, M. K. Exact analytical solution of the Susceptible-Infected-Recovered (SIR) epidemic model and SIR model with equal death and birth rates. **Applied Mathematics and Computation**, New York, v. 236, p. 184-194, 2014.

HETHCOTE, H. W. Quantitative analyses of communicable disease models. **Mathematical Biosciences**, New York, v. 28, n. 3-4, p. 335-356, 1976.

HETHCOTE, H. W.; WANG, W.; LI, Y. Species coexistence and periodicity in host-host-pathogens models. **Journal of Mathematical Biology**, Heidelberg, v. 51, n. 6, p. 629-660, 2005.

HETHCOTE, H. W.; ZHIEN, M.; SHENGBING, L. Effect of quarantine in six epidemic models for infection diseases. **Mathematical Biosciences**, New York, v. 180, p. 141-160, 2002.

IBAMA. **História**. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/supes-al/historia>>. Acesso em: 5 fev. 2014.

INOUE, M. S. R.; NAVA, D. E.; PARRA, J. R. P. Biological control of *Sitotroga cerealella* in stored corn using *Trichogramma pretiosum* and *Bracon hebetor*. **Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas**, Madrid, v. 34, n. 4, p. 517-527, 2008.

JOSE, L. A. A.; MEDINA, C. L.; CESNICK, R.; NAKANO, O. Comparação entre diferentes métodos de controle da cochonilha parlatória em pomares de citros. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 13, n. 1, p. 325-338, 1992.

KERMACK, W. O.; MCKENDRICK, A. G. A contribution to the mathematical theory of epidemics. **Proceedings of the Royal Society of London. A**, London, v. 115, n. 772, 1927. p. 700-721.

KODAIRA, J. Y.; PASSOS, J. R. S. The basic reproduction number in SIR models : a probabilistic approach. In: CONFERENCE ON DYNAMICS, CONTROL AND THEIR APPLICATIONS, 9., 2010, Serra Negra. **Proceedings...** São Carlos: SB-MAC, 2010. p. 226-231.

KOMATSU, S. S.; NAKANO, O. Estudo visando o manejo do ácaro da leprose em citros através do ácaro predador *Euseius concordis*. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 9, n. 1, p. 125-146, 1988.

KRANZ, J. Measuring plant disease. In: KRANZ, J.; ROTEM, J. (Ed.). **Experimental techniques in plant disease epidemiology**. Heidelberg: Springer, 1988. p. 35-50.

LASDON, L. S. **Optimization theory for large systems**. New York: Macmillan, 1970. 523 p.

LAZARIN, D. F.; PESSOA, M. C. P. Y.; SÁ, L. A. N.; MARINHO-PRADO, J. S. Avaliação preliminar por simulação numérica da influência de variedades de eucalipto na dinâmica populacional do percevejo bronzeado visando biocontrole. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 12., 2011, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Sociedade Entomológica do Brasil, 2011a. Pt 02.63.

LAZARIN, D. F.; PESSOA, M. C. P. Y.; SÁ, L. A. N.; MARINHO-PRADO, J. S. Avaliações preliminares da dinâmica populacional do percevejo bronzeado em *Eucalyptus camaldulensis* em condições de criação laboratorial estudo por simulação numérica. In: CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA - CIIC 2011, 5., 2011, Campinas. **Anais...** Campinas: Embrapa Monitoramento por Satélite, 2011b. p. 1-8.

LEITE, R. M. V. B. C.; AMORIM, L. Influência da temperatura e do molhamento foliar no monociclo da mancha alternaria em girassol. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 27, n. 2, p. 193-200, 2002.

LETEREN, J. C. van. Controle de qualidade de agentes de controle biológico produzidos massalmente. 2009. pp.311-337. In: BUENO, V. H. P. **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. Lavras: UFLA, 2009. 430 p.

LETEREN, J. C. van; COCK, M. J. W.; BRODEUR, J.; BARRATT, B. I. P.; BIGLER, F.; BOLCKMANS, K.; HAAS, F.; MASON, P. G.; PARRA, J. R. P. Will the Convention on Biological Diversity put an end to biological control. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 55, n. 1, p. 1-5, 2011.

LIMA, M. A.; CABRAL, O. M. R.; MIGUEZ, J. D. G. (Org.). **Mudanças climáticas globais e a agropecuária brasileira**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2001. 397 p .

LUENBERGER, D. G. **Introduction to dynamic systems: theory, models, and applications**. New York: J. Willey, 1979. 446 p.

MADDEN, L. V.; HUGHES, G.; BOSCH, F. van den. **The study of plant disease epidemics**. St Paul: American Phytopathological Society, 2007. 421 p.

MALIKI, S. O. Analysis of numerical and exact solutions of certain SIR and SIS Epidemic Models. **Journal of Mathematical Modelling and Application**, Blumenau, v. 1, n. 4, p. 51-56, 2011.

MARTINS, J. F. S.; GRÜTZMACHER, A. D.; CUNHA, U. S. Descrição e manejo integrado de insetos-praga em arroz irrigado. In: GOMES, A. S.; MAGALHÃES, J. R.; A. M. (Ed.). **Arroz irrigado no Sul do Brasil**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. p. 635-675.

MENDONÇA, A. F. Controle integrado de pragas da cana-de-açúcar na América Latina e Caribe. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 10., 1986, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Sociedade Entomológica do Brasil, 1986. p. 24.

MOLTER, A.; RAFIKOV, M. Controle ótimo em agroecossistemas usando SDRE. **TEMA**, São Carlos, v. 12, n. 3, p. 221-232, 2011.

MORAES, G. J.; TAMBASCO, F. J.; SÁ, L. A. N. O controle biológico clássico e o serviço quarentenário no Brasil. In: DONADIO, L. C.; GRAVENA, S. (Coord.). **Manejo integrado de pragas dos citros**. Campinas: Fundação Cargill, 1994. p. 77-85. Edição dos anais do 3º Seminário Internacional de Citros, Bebedouro, 1994.

MORENO, P. R.; NAKANO, O.; HOTTA, F. K. Thiobel 500 (Cartap) no controle da lagarta minadora do citros, *Phyllocnistis citrella* Station, 1956 (Lepidoptera, Gracillariidae). **Laranja**, Cordeirópolis, v. 17, n. 1, p. 260-260, 1996.

MOSCARDI, F.; KASTELIC, J. G. Ocorrência de vírus de poliedrose nuclear e vírus de granulose em populações de *Spodoptera frugiperda* atacando soja na região de Sertaneja, PR. In: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Resultados de pesquisa de soja 1984/1985**. Londrina, 1985. 128 p. (Embrapa-CNPSo. Documentos, 15).

NAÇÕES UNIDAS. World Commission on Environment and Development. **Our common future**. New York: Oxford University, 1987.

NETER, J.; WASSERMAN, W.; KUTNER, M. H. **Applied linear statistical models: regression, analysis of variance and an experimental designs**. New York: Donnelley, 1990. 515 p.

NEVES, A. D. **Estimativa do nível de dano de *Orthezia praelonga* Douglas 1891 e de *Leucoptera coffeella* (Guérin Mèneville 1842) por variáveis fisiológicas vegetais**. 2004. 75 f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

NOBLE, B.; DANIEL, J. W. **Álgebra linear aplicada**. Rio de Janeiro: Prentice-Hall do Brasil, 1986. 378 p.

ODUM, E. P. **Fundamentos de ecologia**. 7. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2004. 927 p.

OLIVEIRA, G. G. F. B.; SILVA, C. L.; NAKANO, O. Controle químico da mosca branca, biótipo B (Homoptera, Aleyrodidae), na cultura do pimentão (cv. Magali). **Revista da Sociedade de Olericultura do Brasil**, Brasília, DF, v. 18, n. 7, p. 458-460, 2000.

OLIVEIRA, L. A. **A importância das normas internacionais para o comércio da fruticultura brasileira**. 2005. 168 f. Dissertação (Mestrado em Economia Aplicada) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

ONSTAD, D. W.; CARRUTHERS, R. I. Epizootiological models of insect diseases. **Annual Review of Entomology**, Paulo Alto, v. 35, p. 399-419, 1990.

OTERO, M.; SOLARI, H. G.; SCHWEIGMANN, N. A stochastic population dynamics model for *Aedes aegypti*: Formulation and application to a city with temperate climate. **Bulletin of Mathematical Biology**, New York, v. 68, n. 8, p. 1945-1974, 2006.

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. v. 1. 635 p.

PARRA, J. R. P.; SÁ, L. A. N. Situação atual e perspectivas do controle biológico, através de liberações inundativas no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 27, p. 271-279, 1992.

PARRA, J. R. P.; SILVEIRA NETO, S.; KASTEN JUNIOR, P.; BRUNINI, O. Bioecologia de *Alabama argillacea*. II. Evolução populacional em 6 regiões do Estado de São Paulo com base em suas exigências térmicas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 19, n. 4, p. 417-421, 1984.

PARRA, J. R. P.; YAMAMOTO, P. T.; CHAGAS, M. C. M.; BENTO, J. M. S.; MASSARI, C.; NASCIMENTO, A. M. Classical biological control in Brazil: *Ageniaspis citricola* x *Phyllocnistis citrella*, a recent case of success. **Journal of Insect Science**, Cary, v. 7, p. 16, 2007.

PARRA, J. R.; ZUCCHI, R. A. **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba, SP: FEALQ, 1997. 324 p.

PESSOA, M. C. P. Y. **Simulação e inteligência artificial aplicadas ao estudo da dinâmica populacional do bicudo do algodoeiro na região de Campinas/SP**. 1994. 310 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

PESSOA, M. C. P. Y.; CHAIM, A.; CAPALBO, D. M. F.; HAMADA, E.; TAMBASCO, F. J.; FERRAZ, J. M. G.; SKORUPA, L. A.; ASSAD, M. L. L.; SCRAMIN, S. **Boas práticas agrícolas e meio ambiente**: elementos de apoio para as boas práticas agrícolas e o sistema APPCC/PAS Campo. 2.ed. rev. atual. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. p. 13-33.

PESSOA, M. C. P. Y.; FERNANDES, E. N. Modelagem matemática e simulação de sistemas aplicadas ao planejamento ambiental e da atividade agrícola. In: GOMES, M. A. F.; PESSOA, M. C. P. Y.; (Ed.). **Planejamento ambiental do espaço rural com ênfase para microbacias hidrográficas**: manejo de recursos hídricos, ferramentas computacionais e educação ambiental. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2010. p. 79-117.

PESSOA, M. C. P. Y.; FERNANDES, E. N.; QUEIROZ, S. C. N.; FERRACINI, V. L.; GOMES, M. A. F.; SOUZA, M. D. Mathematical-modelling simulation applied to help in the decision-making process on environmental impact assessment of agriculture. In: PRADO, H. A.; LUIZ, A. J. B.; CHAIB FILHO, H. (Ed.). **Computational methods for agricultural research**: advances and applications. New York: Information Science Reference, 2011, p. 199-233.

PESSOA, M. C. P. Y.; LUCHIARI JUNIOR, A.; FERNANDES, E. N.; LIMA, M. A. **Principais modelos e simuladores usados em análise de impacto ambiental da agricultura**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1997. 87 p. (Embrapa CNPMA. Documentos, 8).

PESSOA, M. C. P. Y.; MEYER, J. F. C. A.; FERNANDES, J. F. R.; HABIB, M. E. E. Numeric simulation system using artificial intelligence to analyze the cotton boll weevil dynamic population. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON QUANTITATIVE METHODS FOR ENVIRONMENTAL SCIENCES, 7., 1996, São Paulo. **Abstracts...** São Paulo: USP, IME, 1996. p. E7-E10.

PESSOA, M. C. P. Y.; MEYER, J. F. C. A.; FERNANDES, J. F. R.; HABIB, M. E. BICSYS: sistema integrado de análise da dinâmica populacional do bicudo do algodoeiro. In: FEIRA E CONGRESSO DE INFORMÁTICA APLICADA À AGROPECUÁRIA E AGROINDÚSTRIA, 1995, Juiz de Fora. **Resumos expandidos...** Juiz de Fora: Agrosoft, 2000, 1995. 5 p.

PESSOA, M. C. P. Y.; MEYER, J. F. C. A.; FERNANDES, J. F. R.; PIEROZZI JUNIOR, I.; HABIB, M. E. Mathematical modeling and numerical simulation applied to the crop-pest-parasitoid interaction. In: CONGRESO INTERNACIONAL DE BIOMATEMÁTICA, 6., 1993, Costa Rica. **Resumos...** Costa Rica: Universidad de Costa Rica, 1993. 3 p.

PESSOA, M. C. P. Y.; SÁ, L. A. N.; KODAIRA, J. Y.; WILCKEN, C. F.; ALMEIDA, G. R. Avaliação de estratégias de criação laboratorial visando o controle biológico do psilídeo-de-concha, *Glyscaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae) por parasitismo de *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae) por simulação de sistemas. In: SIMPOSIO DE ENTOMOLOGIA, 1.; REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE DE ENTOMOLOGIA DA PARAIBA, 3., 2007, Campinas Grande. **Anais...** Campina Grande: SEP, 2007. p. 135-135.

PESSOA, M. C. P. Y.; SÁ, L. A. N.; KODAIRA, J. Y.; WILCKEN, C. F.; ALMEIDA, G. R. Mathematical-modelling simulation of red gum lerp psyllid *Glyscaspis brimblecombei* population dynamics towards the strategy identification for biological control with its parasitoid *Psyllaephagus bliteus*. In: CONFERENCE ISEM 2009, Québec. **Ecological modelling for enhanced sustainability in management: proceedings**. Québec: International Society for Ecological Modelling, 2009. p. 238

PESSOA, M. C. P. Y.; SÁ, L. A. N.; KODAIRA, J. Y.; WILCKEN, C. F.; ALMEIDA, G. R. **Simulação da dinâmica populacional do psilídeo-de-concha, *Glyscaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae) e identificação de estratégias para a criação laboratorial de seu parasitoide *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae)**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2008. 32 p. (Embrapa Meio Ambiente. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 49).

PESSOA, M. C. P. Y.; SÁ, L. A. N.; SAQUI, G. L.; ROCHA, A. B. O.; WILCKEN, C. F. **Indicadores populacionais de machos e fêmeas do psilídeo-de-concha, *Glyscaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae), em condições de criação em laboratório: longevidade e curvas de sobrevivência**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2010. 27 p. (Embrapa Meio Ambiente. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, n. 56)

PESSOA, M. C. P. Y.; SCRAMIN, S. modelagem matemática e simulação da exposição do ambiente à aplicação de agrotóxicos: apoio à avaliação de risco ambiental. In: SILVA, C.M.M.S; FAY, E. F. (Ed.). **Agrotóxicos e ambiente**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. p. 319-364.

PESSOA, M. C. P. Y.; SILVA, A. S.; CAMARGO, C. P. **Qualidade e certificação de produtos agropecuários**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. 188 p. (Texto para Discussão, 14).

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. Piracicaba: FEALQ, 2009. 451 p.

PINTO, A. S.; NAVA, D. E.; ROSSI, M. M.; MALERBO-SOUZA, D. T. (Org.). **Controle biológico de pragas na prática**. Piracicaba: CP 2, 2006. 287 p.

PINZÓN, A.; BARRETO, E.; BERNAL, A.; ACHENIE, L.; BARRIOS, A. F. G.; ISEA, R.; RESTREPO, S. Computational models in plant-pathogen interactions: the case of *Phytophthora infestans*. **Theoretical Biology and Medical Modelling**, London, v. 6, n. 24, p. 1-11, 2009.

PIRES, P. C.; FERNANDES, J. M. C.; NICOLAU, M. Modelagem do progresso temporal e do padrão espacial de lesões de ferrugem da folha de trigo. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, DF, v. 34, n. 2, p. 97-107, 2009.

PLANK, J. E. van der. **Plant diseases: epidemics and control**. New York: Academic Press, 1963. 349 p.

PLATÃO-SAVIOLI, F.; FIORIN, J. L. **Para entender o texto: leitura e redação**. São Paulo: Ática, 2007. 432 p

REIS JUNIOR, R.; PARRA, J. R. P.; BENTO, J. M. S. Desenvolvimento de um modelo para previsão de ocorrência do Bicho-furão-dos-citros, *Ecdytolopha aurantiana* (Lima) (Lepidoptera: Tortricidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, n. 4, p. 627-638, 2005.

RIBACK, T. I. S.; GODOY, W. A. C. Fecundity, body size and population dynamics of *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) (Diptera: Calliphoridae). **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 68, n. 1, p. 123-128, 2008,

RITCHER, O.; SÖNDGERATH, D. **Parameter estimation in ecology: the link between data and models**. New York: VCH, 1990. 218 p.

ROSA, G. S.; COSTA, M. I. S.; CORRENTE, J. E.; SILVEIRA, L. V. A.; GODOY, W. A. C. Population dynamics, life stage and ecological modeling in *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 40, n. 2, p. 181-189, 2011.

SÁ, L. A. N. Impacto ambiental do intercâmbio internacional de agentes de controle biológico de pragas. **G. Bio: Revista de Controle Biológico**, Piracicaba, edição especial, p. 41-44, 2010.

SÁ, L. A. N.; OLIVEIRA, M. R. V. Perspectivas do controle biológico de pragas no Brasil. In: PINTO, A.S.; NAVA, D. E.; ROSSI, M. M.; MALERBO-SOUZA, D.T. (Org.). **Controle biológico de pragas: na prática**. Piracicaba: CP 2, 2006. p. 255-287.

SÁ, L. A. N.; PESSOA, M. C. P. Y.; SAQUI, G. L.; ROCHA, A. B. O. Avaliação das constantes térmicas das fases de desenvolvimento do Psilídeo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* em laboratório. **Revista Agrogeoambiental**, Pouso Alegre, v. 1, n. 2, p. 31-38, 2009.

SANTOS, A. A.; CARDOSO, J. E.; BEZERRA, M. A.; PINHEIRO NETO, L. G. Análise do progresso e danos causadas pelo amarelão do meloeiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 34, n. 4, p. 359-360, 2008.

SAQUI, G. L.; PESSOA, M. C. P. Y.; SÁ, L. A. N.; ROCHA, A. B. O.; ALMEIDA, G. R.; WILCKEN, C. F. Efeito das infestações iniciais de gaiolas de criação com adultos de psilídeo-de-concha *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera: Psyllidae) na sua longevidade., 2008. **O Biológico**, São Paulo, v. 70, p. 150, 2008b. Edição dos resumos da 21ª Reunião Anual do Instituto Biológico, São Paulo, 2008.

SAQUI, G. L.; PESSOA, M. C. P. Y.; SÁ, L. A. N.; WILCKEN, C. F.; ROCHA, A. B. O.; ALMEIDA, G. R. Resultados preliminares da longevidade de adultos do psilídeo-de-concha *glycaspis brimblecombei* em gaiolas de criação em condições de laboratório. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 22., 2008, Uberlândia. **Resumos...** Viçosa: UFV, 2008a.

SERAFIM, C. A.; SÁ, L. A. N.; PESSOA, M. C. P. Y.; WILCKEN, C. F.; CAVASOTI, D. S. Monitoramento da praga exótica percevejo bronzeado *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) em hortos florestais de eucalipto no Estado de São Paulo. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 12., 2011, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Sociedade Entomológica do Brasil, 2011. Pt 02.57.

SGRILLO, R. **Modelos matemáticos para simular a introdução e dispersão da monilíase do cacaueteiro no Brasil**. Brasília, DF: CEPLAC, CEPEC, 2010. 85 p.

SGRILLO, R. B.; SGRILLO, K. R. P. A. Modelo para simulação da evolução da vassoura-de-bruxa do cacaueteiro na Bahia: validação do modelo. **Agrotrópica**, Itabuna, v. 15, n. 1, p. 25-32, 2003.

SHAW, M. W. Modeling stochastic processes in plant pathology. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 32, p. 523-544, 1994.

SILVA, D. H. Protocolos de Montreal e Kyoto: pontos em comum e diferenças fundamentais. **Revista Brasileira Política Internacional**, v. 52, n. 2, p. 155-172, 2009.

SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O.; BARBIN, D.; VILLA-NOVA, N. A. **Manual de ecologia dos insetos**. São Paulo: Ceres, 1976. 419 p.

SIMBERLOFF, D. Risks of biological control for conservation purposes. **BioControl**, Dordrecht, v. 57, n. 2, p. 263-276, 2012.

SKELSEY, P.; WITH, K. A.; GARRET, K. A. Pest and disease management: why we shouldn't go against the grain. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 8, n. 9, 2013. 11 p.

SOUZA, G. S. **Introdução aos modelos de regressão linear e não-linear**. Brasília, DF; Embrapa-SPI: Embrapa-SEA, 1998. 489 p.

STIVANELLI, A.; PESSOA, M. C. P. Y.; SÁ, L. A. N. de; SILVA, J. P. Estimativa de estádios ninfais do Psilídeo-de-concha em função dos tamanhos das conchas. **Revista Agrogeoambiental**, Pouso Alegre, v. 1, n. 3, p. 73-78, 2009.

SUJI, E. R. **Padrão de distribuição das populações anuais e modelo fenológico para o manejo da cigarrinha-das-pastagens, *Deois flavopicta* (Homoptera: Cercopidae)**. 1994. 240 f. Dissertação (Mestrado) - IB-UNICAMP, Campinas.

SUJI, E. R.; TIGANO, M. S.; SOSA-GOMES, D. Simulação do impacto do fungo *Nomuraea rileyi* em populações da lagarta da soja. *Anticarsia gemmatalis* **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 37, n. 11, p. 1551-1558, 2002.

TERNES, S.; FERNANDES, J. F. R.; YANG, H. M. O uso de modelagem matemática e simulação na avaliação do controle biológico da minadora do citros. **Revista Brasileira de Agroinformática**, Lavras, v. 7, n. 2, p. 1-16, 2005.

TERNES, S.; YANG, H. M. **Um modelo determinístico para avaliação do controle biológico de pragas de citros**. Campinas: Embrapa Informática Agropecuária, 2002. 25 p. (Embrapa Informática Agropecuária. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 3).

VALENTIN, J. L. **Ecologia numérica: uma introdução à análise multivariada de dados ecológicos**. Rio de Janeiro: Interciência, 2000. 117 p.

VILCARROMERO, A. C. S. **Análise de modelos determinísticos em fitopatologia**. 1996 34 f. Dissertação (Mestrado) - IMECC/UNICAMP, Campinas.

WANGERSKY, P. J. Lotka-Volterra population models. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, n. 9, p. 189-218, 1978.

ZADOKS, J. C. On the conceptual bases of crop loss assessment: the threshold theory. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, n. 23, p. 455-473, 1985.

ZIEMMERMANN, F. J. P. **Estatística aplicada à pesquisa agrícola**. Santo Antonio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2004. 402 p.

ZILL, D. G. **Equações diferenciais com aplicações em modelagem**. São Paulo: Pioneira Thomson Learning, 2003. 492 p.

ZUCCHI, O. L. A. D. ; PARRA, J. R. P.; SILVEIRA NETO, S. Desenvolvimento de um modelo determinístico compartimental para simular o controle de *H. virescens* (Fabr., 1781) através de *Trichogramma spp.* **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 18, n. 2, p. 357-365, 1989.

## Uso do Manejo Integrado de Pragas e Controle Biológico pelos Agricultores na América Latina e no Caribe: Desafios e Oportunidades

Yelitza C. Colmenarez, Kris Wyckhuys, Matthew A. Ciomperlik e Denise T. Rezende

---

### Introdução

Estima-se que pelo menos 40% de todas as culturas são perdidas nas fases de pré e pós-colheita por pragas e doenças, problemas nutricionais, colheita e práticas de armazenamento (OERKE; DEHNE, 2004). Por outro lado, estima-se também que nas próximas duas décadas haverá a necessidade de alimentar aproximadamente 2,5 bilhões de pessoas a mais, o que significa que a produção mundial em 2050 deveria ser 60 % maior do que a produção dos anos 2005/2007 (ALEXANDRATO; BRUINSMA, 2012). O aumento da produção, como resultado de um eficiente controle de pragas, depende principalmente do Manejo Integrado de Culturas (MIC) e em particular do Manejo Integrado de Pragas (MIP). Dentro do contexto MIP, o controle biológico é considerado como uma ferramenta importante para o controle de pragas (PARRA et al., 2002).

Uma das maiores limitações da produção em diferentes áreas agrícolas da América Latina e do Caribe é a incidência de pragas e doenças. Diante deste problema, os produtores geralmente utilizam agrotóxicos convencionais, que na maioria dos casos constitui o único método de controle disponível em áreas rurais. Devido ao

impacto negativo causado pelo excessivo uso de agrotóxicos, atualmente procuram-se adotar métodos sustentáveis, dentro do contexto do Manejo Integrado de Pragas (MIP), tais como o controle biológico. Diversas estratégias do biocontrole foram desenvolvidas para diversas pragas. Como apresentado por Bergvinson (2004), o uso de microrganismos e parasitoides, por exemplo, pode desempenhar um papel importante em relação à proteção de plantas como elemento chave dos programas de MIP.

O controle biológico na América Latina e no Caribe encontra-se em condições muito favoráveis em função do clima da maioria dos países e de sua rica biodiversidade, que resulta em um grande arsenal de inimigos naturais de pragas, representado por parasitoides, predadores e patógenos (ALVES et al., 2008). No entanto, a sua implementação é ainda muito limitada, especialmente pela falta de conhecimento, assistência técnica, e de políticas que ajudem os produtores a implementar e entender melhor o processo natural que o envolve, bem como seus benefícios. Além disso, o sistema agrícola, em muitos países da América Latina e Caribe, caracteriza-se por ser conduzido por pequenos agricultores, geralmente não tecnificados e com uma lucratividade limitada pela área reduzida de suas propriedades (ALVES et al., 2008). No Brasil, por exemplo, apesar de todos os esforços e a disponibilidade de produtos biológicos no mercado, a utilização do controle biológico e a sua adoção por parte dos agricultores ainda está muito aquém de seu potencial (PARRA et al., 2002). Segundo Parra et al. (2002), isto se deve, entre outros fatores, à forte dependência dos agricultores do controle químico e também das grandes dificuldades na transferência da tecnologia do controle biológico.

Neste capítulo a América Latina e o Caribe serão considerados como uma única região e são apresentados os desafios mais marcantes e algumas propostas para a implementação de programas de MIP e controle biológico por agricultores da região com participação dos principais setores agrícolas.

## Manejo integrado de pragas e controle biológico

Como apresentado por Simmonds (1976), a América Latina e o Caribe se caracterizam por ter diversos sistemas agroecológicos e de produção agrícola, produtores trabalhando em uma agricultura de subsistência e outros em grande escala comercial. As culturas nativas produzidas incluem: milho (*Zea mays*), feijão (*Phaseolus spp.*), algodão (*Gossypium hirsutum*, *G. barbadense*), tomate (*Solanum lycopersicum*), batata doce (*Ipomea batatas*), seringueira (*Hevea brasiliensis*), batata (*Solanum tuberosum*) e mandioca (*Manihot esculenta*). A região apresenta alta biodiversidade devido ao grande número de espécies nativas reportadas, tanto de culturas como de insetos e entomopatógenos, representando uma fonte importante de biodiversidade, fornecendo novos genes para resistência de plantas e para controle biológico clássico ou aumentativo.

Apesar dos recursos biológicos e a alta biodiversidade, o uso de controle biológico é escasso. O uso excessivo e o emprego incorreto de agrotóxicos têm sido alguns dos principais obstáculos para a implementação do Manejo Integrado de Pragas (MIP) na América Latina (FAOSTAT, 2014). Segundo Lopez (2004), no Caribe o uso excessivo de agrotóxicos tem se incrementado nos últimos anos. Um estudo socioeconômico em hortaliças (tomate, repolho, berinjela) feito pelo Ministério de Agricultura de Trinidad e Tobago em 1995, mostrou o uso indiscriminado de agrotóxicos, apresentando um número injustificável de aplicações.

Na América Latina e no Caribe a procura por métodos alternativos de controle tem aumentado devido, entre outros fatores, ao maior acesso à informação por parte da população sobre os danos à saúde que os agrotóxicos podem causar. Como apresentado por Bergvinson (2004) o uso do controle biológico e MIP, na maioria dos casos, se deve a fatores econômicos e a uma crescente consciência pública do risco que representam os agrotóxicos para a saúde humana e para o ambiente.

É importante a conscientização dos agricultores de que as práticas agrícolas aplicadas têm um efeito direto na incidência de pragas e doenças. Na América Latina e no Caribe, como em outras regiões, o MIP se encaixa bem dentro do contexto das estratégias do Manejo Integrado de Culturas (MIC), embora muitos agricultores não consigam associar práticas agrícolas como causa de determinados problemas fitossanitários ou para a sua prevenção. Um manejo inadequado da cultura, como por exemplo, usar uma densidade de plantas menor do que a recomendada, pode causar futuros problemas, já que pode fornecer as condições adequadas para o desenvolvimento de doenças. Por outro lado, um adequado manejo pode levar a um aumento significativo da produção. Como exemplo, na Argentina e no Brasil a adoção do plantio direto aumentou o uso de herbicidas, mas reduziu a erosão do solo, e, conseqüentemente, tornou a produção agrícola mais rentável e sustentável (EKBOIR, 2002).

Quanto à conservação dos agentes de controle biológico como práticas culturais, podem ser desenvolvidas e implementadas para permitir que os inimigos naturais realizem suas funções, em seu máximo potencial, para causar a supressão da população das pragas. Isto pode ser realizado através da redução dos fatores adversos que afetam os inimigos naturais e do fornecimento de um melhor meio para o seu desenvolvimento, como, por exemplo, fontes de néctar e pólen (LANDIS et al., 2000). Em ambas regiões e globalmente, a metodologia das escolas de campo tem ajudado para que os produtores adquiram um melhor entendimento agroecológico e das funções e benefícios dos inimigos naturais ajudando a sua conservação (DOLLY, 2009; FAO-PESA, 2005; LOPEZ et al., 2004; OOL; KENMORE, 2005).

O impacto do MIP na América do Sul foi estudado por Campanhola et al. (1995), sendo que a maioria dos projetos estava focada no uso consciente de agrotóxicos seletivos (incluindo biopesticidas),

rotação de culturas, práticas culturais e uso de controle biológico. No entanto, quando a metodologia MIP é introduzida aos agricultores, incluindo o monitoramento de pragas e doenças, é difícil de ser aceita em um primeiro contato, uma vez que o produtor não tem o hábito de avaliar as plantações para verificar quais pragas e em que quantidade estão presentes antes de fazer uma aplicação.

Na América Latina, em geral, existe uma grande dependência dos defensivos agrícolas para o controle de pragas e doenças. Existem casos em que os produtores dependem quase exclusivamente do uso de agrotóxicos para o controle de pragas e doenças, pois se tem pouco ou nenhum conhecimento do controle biológico. Na Colômbia, 90,5% dos agricultores confiam no uso de calendários de aplicação de agrotóxicos para o manejo de pragas e doenças (WYCKHUYS et al., 2011a). Por outro lado, os agricultores não estão familiarizados com o uso e aplicação de agentes de controle biológico, e alguns produtores questionam se um pequeno parasitoide pode realmente controlar a praga. Em um trabalho realizado na Colômbia, além do uso intensivo de produtos químicos, os agricultores locais de maracujá testaram armadilhas-iscas e práticas sanitárias, mas tinham pouco conhecimento do controle biológico. Entre mais de 120 produtores de maracujá, só dois produtores confiaram em liberações esporádicas de *Chrysoperla carnea* para controle de ácaros, tripes e ovos de lepidópteros (WYCKHUYS et al., 2011a).

No que diz respeito ao conhecimento dos produtores sobre controle biológico, parte do desafio está no fornecimento de informação, de uma forma prática e simples, de como funciona o processo de parasitismo, predação e o controle biológico microbiano. Isso também pode ser explicado de forma interativa através de práticas de campo e parcelas demonstrativas, onde os produtores possam verificar de uma forma visual os benefícios do controle biológico, ressaltando que também existe a possibilidade de avaliar para cada caso a combinação de métodos de controle.

A metodologia das escolas de campo (ECAs) é um bom exemplo de como os agricultores aprendem e são treinados em utilizar os agentes de controle biológico, aplicando os produtos biológicos em parcelas demonstrativas, permitindo que entendam os processos envolvidos para que os controladores biológicos funcionem. A metodologia tem sido aplicada na América Latina e no Caribe, e em diferentes países ao redor do mundo como apresentado por Ool e Kenmore (2005) e Dolly (2009).

Na América Latina existe um grande potencial para a geração de novas tecnologias. Nos diferentes países podemos encontrar instituições nacionais liderando o desenvolvimento de estratégias de controle para as principais culturas. Como exemplo, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), e o Instituto Biológico (IB), no Brasil, o Instituto Nacional de Tecnologia Agrícola (INTA) da Argentina, CORPOICA da Colômbia, INIA e SENASA do Peru, fornecem plantas resistentes, inimigos naturais e métodos de manejo sustentável de culturas. No entanto, existe uma troca de informação muito limitada, até mesmo dentro de um mesmo país. Para favorecer a troca de experiências e maximizar os limitados recursos que são disponibilizados para a pesquisa, sugere-se que sejam criados mecanismos que favoreçam a troca de informação entre os especialistas, pessoas e instituições interessadas em controle biológico tanto na América Latina como no Caribe.

A plataforma da “BioNET International” pode ser um exemplo de como a informação pode ser concentrada numa plataforma central, que estimule e facilite as pesquisas em controle biológico na América Latina e no Caribe, como apresentado por Bergvinson (2004). Da mesma forma, pode ser criada uma plataforma que permita centralizar as informações sobre experiências e resultados na transferência e adoção do controle biológico na América Latina e no Caribe. Apesar da importância da adoção dos pacotes tecnológicos, na atualidade, a participação dos agricultores na implementação das

técnicas agrícolas e em especial do uso do controle biológico não tem sido documentada sistematicamente em publicações científicas. Para incentivar que o controle biológico seja usado de forma mais ampla em ambas regiões, é necessário incluir a participação dos oficiais de extensão e dos agricultores nos programas MIP e de controle biológico.

Segundo Bergvinson (2004), programas de controle biológico nos países na América Latina apresentam um dos exemplos mais representativos de proporções custo/benefício realizados nestes tipos de estratégias. Na Argentina, foram importadas 46 espécies de inimigos naturais entre 1900-1979, das quais 18 se estabeleceram; dessas, 14 mostraram controle parcial e apenas 4 espécies atingiram controle completo.

São muitos os casos de introduções de inimigos naturais que tem ajudado a desenvolver programas de controle biológico bem sucedidos na América Latina e no Caribe. Dentre as introduções bem-sucedidas incluem-se: *Prospaltella berlesi* contra a cochonilha-branca-do-pêssego, *Aphelinus mali* (Haldeman) contra o afídeo lanígero da maçã e *Rodolia cardinalis* (Mulsant) contra *Icerya purchasi* (Mask.) (ALTIERI et al., 1989). Já no Brasil, existem vários exemplos de controle biológico clássico. Entre eles inclui-se o controle de *Diatraea saccharalis*, para o qual, em 1974 o CABI (conhecido anteriormente como o Instituto Internacional de Controle Biológico) introduziu em Alagoas o parasitoide *Cotesia flavipes* proveniente de Trinidad e Tobago para ser utilizado no Programa Nacional de Controle Biológico de *Diatraea* spp. no Brasil, desenvolvido pelo IAA/Planalsucar (BENNETT, 1984; MENDONÇA FILHO et al., 1977). Este caso representa um dos programas de controle biológico pioneiros na região, e que continua sendo implementado com sucesso na atualidade. Outro exemplo de programa de controle biológico bem-sucedido na América do Sul foram as liberações aumentativas dos parasitoides *Apanteles flavipes* (Cameron), *Trichogram-*

*ma pretiosum* (Riley), *Paratheresia claripalpis* (Wulp) e *Metagonistylum minense* (Townsend), usados com sucesso no controle de *D. saccharalis* Fabricius no Brasil e na Colômbia (BERGVINSON, 2004). Mais um exemplo, é o programa iniciado em 1990, pela Embrapa Semi-Árido, com a introdução de *T. pretiosum* da Colômbia para o controle da traça-do-tomateiro, *Tuta absoluta* (HAJI, 1982). Desde a introdução do inimigo natural o programa vem sendo implementado com sucesso em diferentes estados brasileiros. A introdução de *Ageniaspis citricola* no Brasil em 1998 para o controle de *Phyllocnistis citrella*, também resultou no estabelecimento de um programa de controle biológico bem sucedido.

A América Latina possui uma grande biodiversidade que tem favorecido o estabelecimento de programas de controle biológico regionais, com a exportação de agentes de controle biológico entre países da região, mas também tem ajudado a estabelecer esses programas em diferentes regiões, fornecendo os agentes de controle mundialmente. Como exemplo, temos um dos casos de maior sucesso no controle biológico clássico em mandioca, o qual envolve *Phenacoccus manihoti* e o parasitoide *Epidinocarsis lopezi* De Santis (Hymenoptera: Encyrtidae) importado da América do Sul e da África (HERREN et al., 1987). Neste caso, o uso de inseticidas foi considerado como uma estratégia inviável para o controle da cochonilha, devido ao baixo valor comercial da cultura em alguns países, entre outros fatores.

Devido a isto, o controle biológico foi considerado como uma alternativa promissora. Para facilitar a introdução do parasitoide foi criado um grupo de trabalho liderado pelo Instituto Internacional de Agricultura Tropical (IITA), Instituto Interamericano de Cooperação para a Agricultura (IICA), Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), Instituto Internacional de Controle Biológico (CABI) em Londres, Comitê Inter-africano de Fitossanidade (IAPSC) e Serviço

Nigeriano de Quarentena (Neuenschwander, 1993). Este exemplo, evidencia que esse tipo de articulação e colaboração entre diferentes instituições e países é chave para a troca de informação e de materiais, fortalecendo o estabelecimento de programas de controle biológico na região e globalmente.

Para as liberações de inimigos naturais é importante contar com especialistas do país treinados na metodologia e familiarizados com as condições locais, e isso pode ser feito através do trabalho conjunto com instituições e pesquisadores do país. No Brasil, o programa de controle biológico da cochonilha da mandioca (*P. herreni*) implementado no Nordeste do Brasil, teve pontos similares ao de *P. manihoti* na África. A cochonilha *P. herreni* foi introduzida no Nordeste brasileiro nos anos 1980. A mandioca é a principal cultura de subsistência para pequenos produtores da região nordestina, e nas condições de produção nessa área resultava-se antieconômica a aplicação de inseticidas, de forma que o controle biológico também foi considerado como uma alternativa promissora. Neste caso, o programa foi desenvolvido com recursos do Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento (PNUD) com a participação de diversos pesquisadores e técnicos de diferentes instituições nacionais e internacionais, que fizeram parte do programa denominado “Proteção Fitossanitária Sustentável da Mandioca na América do Sul e África” (Profisma).

Outro exemplo de exportação de inimigos naturais da América do Sul a outras regiões é o caso do parasitoide *A. lopezi* de Santis, que em 1981 foi importado do Paraguai para a Nigéria a fim de ser utilizado em liberações em um programa de controle biológico da cochonilha da mandioca, *P. manihoti*. O programa foi bem sucedido, tendo uma ampla dispersão e eficiente controle da praga (NEUENSHWANDER et al., 1990). Na atualidade, a exportação de inimigos naturais, tanto dentro como fora da região, está limitada se comparada com a forma como era feita no passado devido a apro-

vação da Lei de Biodiversidade, que vem sendo implementada em vários países da América Latina, seguindo o Protocolo de Nagoya (CONVENTION ON BIOLOGICAL DIVERSITY, 2014).

Para que o controle biológico seja implementado numa escala maior na América Latina e no Caribe é importante promover o seu uso de forma integrada com outros métodos de controle. Em ambas regiões a tendência dos agricultores, e até de alguns especialistas, é ver o uso de controle biológico apenas como um componente básico na agricultura orgânica, com ausência completa ou parcial de agroquímicos. No entanto, estudos mostram que os agentes de controle biológico podem ser usados de forma conjunta com outros métodos de controle, tais como produtos químicos, métodos físicos (solarização ou esterilização a vapor) e outras práticas agronômicas, como apresentado por Spadaro e Gullino (2005). O uso combinado de diferentes métodos de controle pode desempenhar um papel importante na proteção de plantas, apresentando-se como elemento chave nos programas de MIP.

### **Maiores limitações à implementação do MIP e controle biológico na América Latina e no Caribe**

A América Latina e o Caribe enfrentam diversas limitações para a implementação de MIP e controle biológico. Nos próximos tópicos apresentados discutimos os fatores limitantes mais relevantes evidenciados na atualidade. Alguns deles podem ser mais frequentes e relevantes dependendo do país.

#### **a. Alta dependência ao uso de agrotóxicos como método de controle e limitada assistência técnica**

Devido a diferentes fatores, entre eles ao limitado acesso dos pequenos produtores a assistência técnica, os agricultores em geral seguem um calendário de aplicação de defensivos agrícolas para o

controle de pragas e doenças. Independentemente da presença de pragas, os agricultores fazem as aplicações sem monitorar e avaliar se é preciso a aplicação do controle curativo. Os vendedores de agroquímicos são, na maioria dos casos, a única fonte de informação e recomendação que os pequenos produtores recebem. Por outro lado, os pequenos produtores veem no monitoramento de pragas um trabalho extra, e preferem a utilização do calendário de aplicações, sem cogitar que podem estar fazendo aplicações desnecessárias que elevam o custo de produção. Como evidenciado em alguns países da América Latina, existem agricultores que dependem quase exclusivamente do uso de agrotóxicos para o controle de pragas e doenças (WYCKHUYS et al., 2011a).

Em geral, tem sido constatada uma tendência no aumento da dependência de agrotóxicos por parte dos pequenos produtores em toda América Central (BENTLEY; ANDREWS, 1996; CONROY et al., 1996; HRUSKA; CORRIOLS, 2002; MORALES; PERFECTO, 2000; NICHOLLS; ALTIERI, 1997). Na maioria dos casos, é porque o controle químico é o que melhor conhecem e se sentem mais familiarizados com a sua aplicação. Neste contexto, é difícil a aplicação por parte dos agricultores de práticas MIP recomendadas. Em alguns países da América Latina e Caribe os produtores sentem uma grande pressão em aplicar produtos químicos, já que por um lado é o método de controle que melhor conhecem; mas por outro lado, dentro das suas comunidades, os produtores que não realizam aplicações na sua cultura no primeiro sinal de ataque de pragas são considerados como preguiçosos ou ineficientes.

#### **b. Problemas no entendimento dos processos biológicos e adoção das metodologias MIP/controlado biológico**

Assim como a maioria dos agricultores conhecem muito bem os agrotóxicos e estão familiarizados com a sua utilização e aplicação, é necessário que seja feito um trabalho conjunto para ajudar a

entenderem e se familiarizarem também com a utilização dos bioprodutos e com os processos biológicos que envolvem a sua ação e eficácia. Poucos agricultores confiam na eficiência dos produtos biológicos quando não entendem a sua forma de ação (WYCKHUYS et al., 2011a). Embora o conhecimento dos inimigos naturais pode ser parcialmente completo ou muito deficiente, a grande maioria dos produtores tem um bom reconhecimento das pragas das culturas com que trabalham. Os produtores de milho da Guatemala pensam somente em insetos herbívoros como pragas, uma vez que causam danos econômicos às suas culturas (MORALES; PERFECTO, 2000). Produtores em Honduras atuam de forma similar: com pouca incidência de infestação de *S. frugiperda*, a maioria dos pequenos produtores de milho age racionalmente abstando-se de controle curativo (WYCKHUYS; O'NEIL 2007a). Em culturas não-nativas, o conhecimento agroecológico parece estar muito menos consolidado. Entre produtores mexicanos de café, o conhecimento da existência de inimigos naturais é particularmente baixo, apesar das frequentes liberações locais de parasitoides para o controle de pragas invasoras de café (SEGURA et al., 2004).

Para um bom entendimento das tecnologias transferidas é importante que a mensagem seja apresentada numa linguagem simples, fácil de ser entendida, sem nomes científicos ou palavras complexas que compliquem a compreensão da mensagem. Frequentemente, materiais de divulgação com excelente informação chegam até os agricultores, mas com linguagem complexa e difícil de entender. Dessa forma, a tecnologia, sua forma de aplicação e informação-chave para a sua utilização, acabam não sendo compreendidas por todos os agricultores, que assim não as aplicam na maioria dos casos. Também é importante destacar que alguns agricultores em ambas regiões não sabem ler, e assim as mensagens nesses casos precisam ser transferidas através de desenhos ou vídeos, explicando (Plantwise, 2014) passo a passo a aplicação dos bioprodutos,

seguindo a metodologia das escolas de campo na América Latina e no Caribe (DOLLY, 2009; FAO-PESA, 2005; LOPEZ, 2004; PROMIPAC-ASOCAM, 2003). Cuéllar e Kandel (2007) relatam as experiências obtidas na Nicarágua no treinamento de agricultores para que eles fossem disseminadores de informação técnica dentro das suas comunidades, utilizando a mesma linguagem dos agricultores locais e apresentando as tecnologias de uma forma simples e prática, levando a uma maior implementação e adoção das tecnologias transferidas.

### **c. Limitadas infraestrutura e telecomunicações nas zonas rurais na região**

Uma das maiores limitações para a implementação do controle biológico são as precárias condições de trabalho, de equipamentos e espaço que muitos países na América Latina e no Caribe enfrentam. Em um mesmo país podemos encontrar situações bem diversas, havendo melhores condições nos estados com maior potencial econômico, em contrapartida a outros estados com condições menos favoráveis. Nas zonas rurais, em especial, a situação é generalizada, onde na maioria dos casos se evidencia a falta de recursos e equipamentos, limitando a multiplicação e a conservação dos agentes de controle biológico, e sua distribuição e oferta nessas áreas. Como apresentado por Bergvinson (2004), na América Latina e no Caribe as fontes de financiamento são muito escassas, limitando a implementação de programas de MIC-MIP. Na maioria dos países em ambas regiões, o investimento dos governos em pesquisa agrícola e extensão são muito baixos. O setor público de pesquisa agrícola não anda no mesmo passo que o setor privado em termos de infraestrutura, fundos operacionais e compensação.

Em geral, nas zonas rurais dos países em ambas regiões, o acesso à internet e outras formas de comunicação, quando presentes, pos-

suem disponibilidade limitada. Na maioria dos casos as zonas rurais apresentam uma infraestrutura carente de telecomunicações, o que impede o uso extensivo de internet. Sem acesso a sistemas de comunicação em geral, os pesquisadores e técnicos de extensão ficam impossibilitados de trocar experiências, ou mesmo ter acesso a informações sobre novas tecnologias geradas para pragas e doenças que se apresentam nessas áreas (KATES et al., 1997).

Certamente, é muito importante que os governos forneçam fontes de financiamento que ajudem a desenvolver uma infraestrutura e redes de telecomunicações melhores nos diferentes países da América Latina e do Caribe, e em especial nas zonas rurais, facilitando aos pesquisadores e instituições em geral a troca de informações e experiências. Isso facilitaria a geração e teste de novas tecnologias e de novos produtos, em especial de produtos biológicos.

#### **d. Número restrito de taxonomistas**

Devido a alta biodiversidade existente na América Latina e no Caribe, é comum encontrar espécies novas de predadores e parasitóides atacando as pragas alvos. No entanto, o número de taxonomistas é muito limitado ou inexistente nos países de ambas regiões. Em muitos casos é necessário contar com os serviços de identificação fornecidos por diferentes instituições em âmbito mundial, como, por exemplo, o Museu Britânico de História Natural, o que pode encarecer o estabelecimento dos programas de controle biológico. No entanto, a taxonomia é um passo indispensável. Uma correta identificação do inimigo natural é a chave de um programa de controle biológico bem sucedido, já que essa informação é importante para assegurar que está utilizando-se a espécie correta (ZUCCHI, 2002).

### e. Problemas legislativos

Não existe, na atualidade, uma legislação única para transporte e troca de inimigos naturais de um país a outro dentro da América Latina e Caribe. Cada país aplica suas próprias regras e processos burocráticos. Em alguns países da América Latina e do Caribe está sendo implementado a Lei de Biodiversidade, seguindo o Protocolo de Nagoya. O protocolo é conhecido como: “*Protocolo de Nagoya sobre Acesso a Recursos Genéticos e Repartição Justa e Equitativa dos Benefícios Derivados de sua Utilização*”, que é um tratado internacional adotado no 2010, em Nagoya, Japão, e se baseia na implementação da Convenção sobre a Diversidade Biológica, conhecida como “ABS” pela sua sigla em inglês. O protocolo estabelece a necessidade de obtenção, pelos usuários potenciais de recursos genéticos, do consentimento prévio fundamentado do país em que o recurso genético está localizado. Desta forma, procura proteger os recursos genéticos e a biodiversidade dos países e propicia uma repartição justa dos benefícios (CONVENTION ON BIOLOGICAL DIVERSITY, 2014).

O problema na América Latina e no Caribe é que os processos burocráticos mudam dependendo do país, e em alguns casos desestimula os pesquisadores a fazerem trocas de material biológico, com fins taxonômicos, devido ao tempo e burocracia envolvidos. Como sugerido por Bergvinson (2004), alguns dos pré-requisitos legislativos para o transporte de insetos (e particularmente de insetos benéficos) poderiam ser coordenados na América Latina e no Caribe através do CARICOM e organizações similares, incentivando a troca de informação entre os países e encontrando pontos em comum na legislação existente em cada país. O ideal seria o estabelecimento de subcomitês multidisciplinares, que organizassem padrões e protocolos comuns para a América Latina e o Caribe regulando o movimento de organismos benéficos entre os países/governos membros.

## f. Comercialização

Nas zonas rurais da América Latina e do Caribe a comercialização e oferta de agentes de controle biológico são muito limitadas ou até inexistentes. Para poder garantir a comercialização de inimigos naturais é preciso que seja estabelecida a sua multiplicação com fins comerciais. Na América Latina e no Caribe, a maioria das criações massais é desenvolvida com fins acadêmicos e/ou de pesquisa. Em geral, existe uma baixa multiplicação de inimigos naturais com fins comerciais, devido, em grande parte, ao fato das instituições apresentarem infraestruturas limitadas. Na maioria dos casos, a criação massal de inimigos naturais para seu uso em programas de controle biológico é realizada em instalações com infraestrutura e equipamentos limitados o que conseqüentemente leva a ter uma oferta reduzida dos inimigos naturais (COLMENAREZ et al., 2010).

Como apresentado por Bergvinson (2004), é preciso considerar e avaliar a infraestrutura dos lugares onde a criação massal das pragas e dos inimigos naturais será estabelecida. Uma infraestrutura deficiente, além de afetar a oferta de inimigos naturais, poderá ocasionar outros problemas, como a fuga, estabelecimento, e a dispersão da praga em um novo ambiente.

A comercialização dos agentes de controle biológico deve ser feita de forma estruturada tentando abranger as zonas rurais e áreas de difícil acesso onde estes sejam requeridos. A maior parte da comercialização de bioprodutos está em mãos de pequenas empresas. Uma forma de atingir produtores em zonas rurais de forma rápida é apresentar os inimigos naturais disponíveis comercialmente. Isto pode ser feito utilizando-se de reuniões com os produtores-líderes, os quais poderão organizar grupos para difusão da informação e comercialização dos produtos. Na Nicarágua e em alguns outros países da região, a comercialização é feita desta forma, embora o processo possa ser melhorado para atingir mais produtores rurais. (PROMIPAC/ASOCAM, 2003).

Na América Latina e no Caribe, a utilização em grande escala de produtos biológicos ainda enfrenta sérios desafios. Um deles é a baixa oferta e pouco marketing dos produtos biológicos, o que faz que em muitas zonas rurais os agricultores não conheçam esses produtos, e não confiem na sua eficiência. Os bioprodutos mais conhecidos e utilizados em ambas regiões são formulados à base de *Bacillus thuringiensis*, os quais são comercializados e aplicados de forma similar aos pesticidas convencionais. Isto faz com que os produtores se sintam mais familiarizados com a tecnologia de aplicação. No entanto, como indicado por Lopes (2009), muitos técnicos e agricultores utilizam o produto sem conhecer sua origem biológica, o que pode levar a erros na sua aplicação, já que não se respeitam os diferentes fatores que podem afetar a eficiência do produto.

Segundo Parra (2002) é importante que os bioprodutos sejam introduzidos corretamente, tendo um acompanhamento técnico para garantir que sejam aplicados de forma correta, garantindo a sua eficiência em campo e a credibilidade dos agricultores. Morandi e Bettiol (2009) enumeram as principais limitações para a comercialização de agentes de controle biológico no Brasil, indicando que a qualidade dos produtos biológicos nem sempre é a melhor devido, entre outros fatores, a uma infraestrutura inadequada e a falta de um bom controle de qualidade, o que também leva a reduzir a eficiência do produto em campo e a aceitação do agricultor.

É importante que os agricultores entendam que os bioprodutos também possuem certas restrições para a sua utilização. Devido a isto, algumas das formulações de agentes de controle biológico devem ser apresentadas, indicando as restrições que possuem, assim como é feito com qualquer outro pesticida convencional (PLANTWISE, 2013).

Apesar dos produtos biológicos estarem longe de atingir o grau de comercialização e utilização dos produtos convencionais na

América Latina e no Caribe, seu mercado continua em expansão. Lenteren (2002) indicou que estão disponíveis no mundo mais de 125 espécies de inimigos naturais para o controle de cerca de 70 espécies de pragas. Isto é uma prova do potencial que o controle biológico tem, e que vencendo os desafios que se apresentam para a sua utilização pode ser aplicado numa escala maior na América Latina e no Caribe.

#### **g. Tecnologia de aplicação dos produtos fitossanitários e práticas agrícolas comuns na região**

Na América Latina e no Caribe ainda existem grande carência de informação e treinamento sobre como melhorar a tecnologia de aplicação de defensivos agrícolas. No entanto, é conhecido que o sucesso do controle de pragas, doenças e plantas daninhas depende muito da qualidade da aplicação do produto fitossanitário. A maioria dos problemas relacionados ao controle de pragas se deve à aplicação incorreta destes produtos. Entende-se por tecnologia de aplicação o conjunto de conhecimentos que propiciam a correta introdução de um produto biologicamente ativo sobre um alvo, de forma econômica e com o mínimo de contaminação ambiental (MATUO, 1990).

A correta aplicação de um produto sobre o alvo exige conhecimentos da biologia, habitat, comportamento da praga, ciclo de desenvolvimento do patógeno e hospedeiro, estágio de desenvolvimento mais suscetível, mecanismo de ação dos produtos, condições meteorológicas favoráveis e fatores que definem o momento da aplicação. No entanto, o desperdício de produtos nas aplicações ainda é preocupante e a aplicação mal feita, além de não controlar o agente biológico, poderá contaminar os trabalhadores e o meio ambiente (GALLO et al., 2002).

Segundo Santos (2004), o sucesso esperado no uso de produtos fitossanitários químicos ou biológicos está na razão direta de três fatores básicos, que são: 1) o bom produto: caracteriza-se fundamentalmente pelo tipo de sua formulação (pó molhável, suspensão concentrada, concentrado emulsionável, concentrado solúvel, grânulos dispersáveis em água, granulados, iscas ou concentrado a ultra baixo volume), dose efetiva de uso, facilidade de uso e operacionalmente seguro em relação ao operador e ao meio ambiente; 2) ser bem aplicado: um bom produto ou formulação só poderá ser comprovado quando atingir adequadamente o alvo final, obtendo-se o resultado efetivo e esperado; 3) no momento certo: refere-se ao estágio ou situação de maior sensibilidade ou localização mais vulnerável do alvo desejado em relação à dose economicamente ativa do produto a ser aplicado.

A maior eficiência nas aplicações dos produtos fitossanitários pode ser obtida com treinamento dos produtores e extensionistas, que devem ser conscientizados sobre os riscos e a importância do estabelecimento de medidas de segurança para o uso desses produtos e do equipamento de aplicação, os quais devem estar certificados e calibrados. Para isto, é fundamental o estabelecimento de normas e procedimentos no manuseio, transporte, armazenamento, preparo de calda e aplicação para se alcançar a melhoria na eficiência dos produtos fitossanitários (ANDEF, 2010).

Ao utilizar esses produtos torna-se necessário saber: a) a cultura existente, os produtos disponíveis, a frequência de uso, a duração da exposição, a data do último contato com o produto e com a lavoura, o equipamento utilizado para a aplicação e as medidas de prevenção a serem adotadas; b) informações sobre o que, quando, como, porque, onde, com que frequência, intensidade e com que tipo de orientação se faz necessária a utilização desses produtos em relação aos ciclos de produção; c) indicações de uso, armazenamento ideal, como preparar e aplicar esses produtos, utilizar

equipamento de proteção individual (EPI), verificar procedimentos de lavagem dos equipamentos de aplicação dos agrotóxicos e destinação que se dá às embalagens, aos restos das caldas e aos EPIs utilizados nas atividades; d) quais as práticas adotadas de proteção à saúde e ao meio ambiente; e) a toxicidade dos produtos, pois ela auxilia nos procedimentos em caso de intoxicação, orienta o médico na hora de fazer um diagnóstico, orienta o produtor na aplicação do produto, na definição dos cuidados a serem tomados, entre outros. A leitura do rótulo das embalagens e da bula é fundamental, pois contém todas as informações necessárias ao uso correto desses produtos (ZAMBOLIM et al., 2003).

A grande preocupação da sociedade está voltada ao momento da aplicação desses produtos e à qualidade dos alimentos, porém não se deve descuidar da segurança em outras etapas, como aquisição dos agrotóxicos/receituário agrônomo, transporte, armazenamento, proteção do trabalhador, preparo da calda, tecnologia de aplicação utilizada e destinação final e descarte de embalagens vazias de produtos fitossanitários (ZAMBOLIM et al., 2003).

### **O controle biológico e as práticas agrícolas *versus* a percepção e o conhecimento do produtor**

Para a implementação de programas de controle biológico na América Latina e no Caribe um dos maiores desafios quanto ao uso correto e eficiente dos agentes de controle biológico consiste na educação e participação ativa dos produtores e também dos extensionistas rurais. Pouco tem sido feito no que diz respeito ao desenvolvimento de métodos participativos em programas de controle biológico que ajudem os agricultores a se sentirem mais familiarizados com a utilização dos agentes de controle biológico. Uma compreensão detalhada dos processos biológicos e da biologia do

inseto-praga é o primeiro passo para saber como aplicar um controle adequado. Isso envolve a identificação das etapas da vida do inseto-praga que são suscetíveis ao ataque de inimigos naturais. Na maioria dos casos os agricultores reconhecem o estado adulto de alguns inimigos naturais e das pragas, mas não estão familiarizados com os outros estados de desenvolvimento. Tem sido, também, reportado que os produtores não conseguem diferenciar pragas e insetos benéficos (como os predadores), uma ferramenta chave da tecnologia do MIP (KISS; LAZARO et al., 1995). No caso de algumas espécies de lepidópteros é evidenciado que são mais suscetíveis ao ataque de inimigos naturais na fase de ovo, ou nos primeiros instares larvais (AVILA et al., 2013), e a identificação correta do estado de desenvolvimento mais suscetível pode levar a um controle eficiente da praga. Por exemplo, a ação dos parasitoides se baseia em atacar uma etapa específica do inseto. Se a etapa correta do hospedeiro não está presente durante a liberação do parasitoide, a ação do inimigo natural vai ser reduzida, fazendo com que os agricultores o considerem de forma errônea como ineficiente. Ooi e Kenmore (2005) apresentam alguns casos usando a metodologia de Escolas de Campo, a qual é implementada em vários países de ambas regiões (DOLLY, 2009; FAO-PESA, 2005; LOPEZ et al., 2004). Neles, o entendimento dos processos biológicos dos inimigos naturais e das pragas-alvo resultou em um impacto positivo no estabelecimento de programas de controle biológico.

É importante levar em consideração o nível de conhecimento dos produtores sobre a praga e quais são os métodos de controle por eles utilizados para depois introduzir em métodos alternativos aos já aplicados ou conhecidos. Como apresentado por Bentley e Graham (1998), o conhecimento sobre a doença do milho causada por *Stenocarpella maydis* por parte dos produtores avaliados era mais amplo do que os fitopatologistas pensavam. Os produtores não conheciam o agente causal, mas conheciam a relação entre a doença e a

umidade. As hipóteses dos produtores sobre as possíveis medidas de controle eram similares às hipóteses científicas sobre o controle da doença. Assim, os pesquisadores agrícolas estão se tornando mais cientes da importância de considerar o fator humano e a participação ativa dos produtores para desenvolver estratégias de manejo integrado de pragas (BENTLEY; GRAHAM, 1998).

O entendimento da informação transferida aos agricultores garante a adoção das tecnologias agrícolas levadas ao campo. Para garantir um bom entendimento é importante considerar a forma e as ferramentas utilizadas na transferência. Por exemplo, é necessário utilizar palavras simples e considerar o grau de instrução dos produtores, já que em certos lugares, em ambas regiões, alguns agricultores não sabem ler. Nesses casos, o uso de materiais didáticos, explicativos com desenhos podem ser utilizados com sucesso para transferir a tecnologia (CABI, 2013; CONFRAS, 2011; PLANTWISE, 2014).

Na América Central o programa de “Campesino a Campesino”, trabalha diretamente com agricultores, treinando um grupo deles na tecnologia que vai ser transferida e levando esses agricultores treinados a passar a informação aos seus colegas no campo. Esta forma didática contribuiu para que produtores entendessem melhor a informação transferida, já que era explicada por produtores com a mesma linguagem simples dos agricultores. Além disso, eles confiavam mais no que era discutido e transferido já que vinha das experiências de outros agricultores. Como apresentado por Ramos (2013), a metodologia se baseou em 80% de atividades práticas e 20% de aulas teóricas. Como ponto de partida foram identificadas as tecnologias agrícolas que os produtores utilizavam com sucesso numa determinada área para serem transferidas a novos lugares, pelos mesmos produtores. Segundo Bergvinson (2004), em relação ao MIP e controle biológico, a compreensão da língua popular e da classificação do mundo biótico pelos produtores, baseado nas

experiências culturais, é essencial para uma efetiva comunicação com conceitos simples (um MIP tático e manipulação dos agrotóxicos) e conhecimento intensivo das tecnologias (um MIP estratégico e manejo do agroecossistema).

Bentley e Rodríguez (2001) explicam que é importante entender como os produtores identificam e classificam as pragas, assim como a terminologia das tecnologias locais já que é um ponto de partida básico para garantir uma comunicação eficaz entre pesquisadores e produtores. Na atualidade, a importância do enlace desta comunicação tem recebido maior atenção no processo de desenvolver novas tecnologias agrícolas, já que se considera necessário o desenvolvimento da tecnologia, sua adoção e a avaliação dos problemas envolvidos na sua aplicação. Para isto, os pesquisadores precisam incluir a participação dos agricultores no processo, desenvolvendo uma aprendizagem participativa para uma melhor aproximação e entendimento.

O World Bank (1997) destaca que a integração efetiva do conhecimento técnico e social é um dos aspectos essenciais da difusão do MIP. Através da interação com os agricultores os pesquisadores podem obter informações do grau de conhecimento que eles possuem sobre as pragas e inimigos naturais, e o que os motiva na utilização de uma técnica específica (MAUMBE et al., 2003). Na adoção da metodologia por parte dos agricultores podem influir muitos fatores, como, por exemplo, o conhecimento que eles têm sobre os processos envolvidos, a praticidade e os custos associados à implementação da tecnologia. Como apresentado por Maumbe et al. (2003), alguns programas de controle biológico e de MIP têm sido bem sucedidos em muitos países, mas o sucesso depende da validação das recomendações técnicas e de fazer com que os elementos técnicos sejam compatíveis com as circunstâncias ecológicas e socioeconômicas dos produtores envolvidos.

A seleção dos meios de comunicação para se atingir mais comunidades agrícolas e mais produtores é um passo essencial no processo de transferência, e para isto devem ser avaliados aqueles mais utilizados e mais efetivos nas zonas rurais. Os meios de comunicação utilizados nas comunidades agrícolas vão depender das condições locais e dos meios disponibilizados nas diferentes áreas rurais. Por exemplo, cooperativas de produtores na América Central usam o rádio como veículo para difusão de informações-chaves das colheitas, de preços no mercado, novas pragas, entre outros, por ser um meio de fácil acesso, em que os agricultores possam ouvir os programas depois das jornadas de trabalho. Na maioria dos países da América Latina e do Caribe são utilizados folhetos e cartazes que são colocados em lugares públicos onde os agricultores costumam frequentar, como os centros das cidades, as feiras agrícolas, e são os meios mais comumente usados e eficientes para levar informação aos agricultores.

Como descrito por Bergvinson (2004), a mídia selecionada deve ser cultural e socialmente aceita. É importante que os agricultores estejam familiarizados com a mídia proposta para difusão da informação. Algumas ideias inovadoras que estão sendo implementadas na América Latina, como as Campanhas de Saúde de Plantas, utilizam os líderes comunitários para levar informação aos agricultores comunicando quando uma atividade vai ser realizada, e que tema será tratado, garantindo desta forma uma alta assistência. As campanhas de saúde de plantas vêm sendo utilizadas em vários países da América Latina como forma de atingir um alto número de produtores em pouco tempo; além disso, são um componente bastante utilizado dentro do serviço de assistência técnica conhecido como clínicas de plantas fornecidos pelos órgãos de extensão públicos e privados na Nicarágua e Bolívia (DANIELSEN et al., 2011; BENTLEY et al., 2009).

Para garantir que os agricultores tenham maior acesso à informação das tecnologias agrícolas e estejam mais familiarizados com as práticas de MIP, incluindo o controle biológico, é necessário desenvolver um trabalho em conjunto onde os órgãos do governo, universidades, instituições de pesquisas e programas agrícolas em implementação possam trabalhar de forma coordenada, abrindo espaços para a troca de informações e avaliando as necessidades dos produtores nas diferentes áreas rurais para oferecer respostas a esses desafios. Um exemplo de como isto pode ser feito é apresentado por Danielsen et al. (2011) com o desenvolvimento da Rede Nacional de Fitoproteção na Nicarágua, onde participam todas as instituições nacionais que trabalham no setor agrícola.

### **Conhecimento agroecológico dos produtores como chave para o sucesso na adoção da tecnologia**

Desde o começo dos anos 90, o conceito de agroecologia tem sido promovido por muitos grupos que trabalham em países da região como um meio de ter uma produção de cultivos mais sustentável através da promoção de tecnologias ambientais e socialmente sensíveis, especialmente para pequenos produtores (ALTIERI, 1993). Nos sistemas agrícolas, o conhecimento agroecológico varia entre culturas, sociedades e áreas geográficas, sendo marcados pela especificidade do manejo das culturas e fatores socioeconômicos (BELLON, 1995; MAHIRI, 1998). Altieri (1995) descreve a agroecologia como o ponto de convergência entre três círculos: objetivos sociais, econômicos e ambientais. Um bom entendimento dos fatores agroecológicos pode levar a uma melhor compreensão e aplicação do controle biológico pelos produtores. Estudos têm demonstrado que um conhecimento sólido do funcionamento de mecanismos agroecológicos é a base para a posterior adoção e difusão de controle biológico (OOI; KENMORE, 2005). Dentro das práticas

agroecológicas é importante promover aquelas que favoreçam a conservação dos inimigos naturais. A manutenção de condições apropriadas dentro da área agrícola é necessária para assegurar o alimento (fontes do pólen e do néctar), o abrigo, os hospedeiros e as presas alternativas para os agentes de controle biológico, a fim de aumentar a sua sobrevivência, fecundidade, longevidade e eficácia final (LANDIS et al., 2000). Alguns exemplos bem sucedidos do controle biológico através do manejo do habitat foram documentados por Khan et al. (2001).

Quando o conhecimento agroecológico é bem consolidado, facilita a adoção por parte dos produtores e a posterior difusão do controle biológico. Para transferir essa informação para os produtores, as Escolas de Campo (ECAs) têm sido bem sucedidas, assim como outras metodologias como as campanhas de saúde de plantas, baseadas no método de “ir ao público”, que atingem um grande número de pessoas em pouco tempo, além de serem metodologias consideradas de baixo custo (BENTLEY et al., 2003).

As escolas de campo nasceram como uma iniciativa para baixar o uso excessivo de agrotóxicos e transferir métodos alternativos de controle aos produtores (BRAUN et al., 2000). Esta metodologia vem sendo implementada na América Latina e no Caribe e tem ajudado pequenos produtores a se familiarizarem com práticas de MIP e métodos alternativos de controle (DOLLY, 2009; FAO-PESA, 2005; LOPEZ et al., 2004; OOL; KENMORE, 2005). Nas escolas de campo os produtores aprendem fazendo, e têm a oportunidade de discutir e avaliar as tecnologias que estão sendo transferidas. Desta forma eles aprendem a avaliar e considerar os princípios fundamentais ecológicos e detalhes do funcionamento dos ecossistemas locais, tais como os processos que governam a dinâmica populacional de pragas (OOI, 1996). Com a sequência de práticas de campo, os produtores aprendem sobre inimigos naturais através de observações regulares em seus campos. Através da metodolo-

gia os produtores aumentam a compreensão agroecológica tendo maiores ferramentas na hora da tomada de decisão, podendo facilmente adotar táticas de MIP (e de controle biológico) e reduzir sua dependência de agrotóxicos. Esta metodologia tem sido utilizada com sucesso no Caribe (DOLLY, 2009), fazendo com que algumas comunidades agrícolas baixassem o uso de agrotóxicos e comesçassem a produzir semi-organicamente.

Lopez et al. (2004), apresentam as diferentes técnicas que podem ser aplicadas na transferência das tecnologias durante a implementação das escolas de campo para um melhor entendimento dos mecanismos agroecológicos. Produtores que antes não conseguiam entender o controle biológico tornaram-se especialistas em agroecologia e usaram isso como base para o manejo racional de pragas (OOI, 1996). Os produtores descobriram processos até então desconhecidos, com base no conhecimento desenvolvido por seus companheiros, e os integraram em suas decisões de manejo (ROLING; FLIERT, 1994). Por meio da implementação das escolas de campo na América Central, os produtores receberam, de uma forma mais prática, as técnicas de MIP, incluindo a utilização dos agentes de controle biológico, apresentando uma adoção mais ampla e difusão das técnicas dentro das comunidades agrícolas (TRUTMANN; BENTLEY, 2003).

Uma vez que os agricultores conhecem o mecanismo de ação dos inimigos naturais sentem-se mais abertos para a sua utilização e a sua conservação. As experiências com as escolas de campo têm mostrado que os produtores devem ter uma parte central e ativa nas atividades de extensão que promovam o controle biológico. Além disso, as ECAs poderiam ser combinadas com outros métodos de extensão, tais como os vídeos de “produtor-a-produtor”. Williamson (1998) e Driesche e Hoddle (2000) mostram muito bem que o sucesso das práticas que promovem o aumento ou a conservação de inimigos naturais está numa cooperação ativa dos produtores.

Em Honduras, os agricultores que aplicavam inimigos naturais adotaram mais opções ecológicas para manejo de pragas, tais como o controle manual (BENTLEY, 1989; WYCKHUYS; O'NEIL, 2007a). Por outro lado, os agricultores com um maior conhecimento do papel dos inimigos naturais são menos propensos a aplicar agrotóxicos (PRICE, 2001; WYCKHUYS; O'NEIL, 2007a). Como observado por Wyckhuys e O'Neil (2007b), os agricultores hondurenhos que participaram de cursos de treinamento tinham melhor noção do controle biológico do que aqueles que não foram treinados.

Em outros lugares, as comunicações interpessoais e treinamentos foram importantes para impulsionar novos conceitos e informações em comunidades de pequenos agricultores e beneficiaram grandemente os níveis de aprendizagem e adoção por parte desses agricultores (BENTLEY et al., 2003). As clínicas de plantas também podem ser utilizadas como um método de transferência eficiente, onde os produtores interagem com os técnicos oficiais de extensão, apresentando-lhes os problemas fitossanitários das culturas plantadas; quando possível os técnicos fazem o diagnóstico do problema e fornecem as recomendações de controle, incluindo controle biológico (BENTLEY et al., 2009; PLANTWISE, 2014).

O controle biológico vem sendo considerado um método de controle eficiente, mas requer um conhecimento básico para a boa implementação, incluindo o papel dos inimigos naturais. Como apresentado por Morales e Perfecto (2000), ainda existem desafios pela frente para uma ampla utilização do controle biológico na América Latina e no Caribe, uma vez que os pequenos produtores locais possuem um conhecimento relativamente limitado sobre o assunto. Por outro lado, poucos produtores (4%) da Guatemala indicaram a importância de proteger os inimigos naturais das pragas. Por sua vez, os produtores de milho em Honduras manifestaram que os inimigos naturais têm pouca importância no controle da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda*, principal praga do milho na re-

gião. Em outros sistemas bem estabelecidos de produção, como na agricultura tradicional, os produtores tendem a ignorar completamente a ação benéfica dos inimigos naturais (ABATE et al., 2000). Segundo Bentley (1992), a falta de reconhecimento dos inimigos naturais por parte dos produtores é diretamente afetada pela sua importância cultural e facilidade de observação.

O impacto da extensão do MIP depende não só da informação de impacto ambiental ou social que pode causar, mas também do método de extensão utilizado (BENTLEY, 2009). Para um bom entendimento dos processos biológicos e maior compreensão do modo de ação dos agentes de controle biológico é necessário utilizar métodos de extensão conhecidos, fazendo com que os oficiais de extensão levem a informação aos produtores utilizando metodologias participativas dentro do processo de transferência da tecnologia agrícola. Isto pode levar a uma participação ativa dos produtores e a um incremento da utilização do controle biológico tanto na América Latina como no Caribe.

### **Resposta aos desafios, atividades propostas e implementação na América Latina e no Caribe**

A seguir são apresentadas algumas iniciativas que estão sendo implementadas na região a fim de poder aumentar o acesso dos agricultores à tecnologia agrícola e à assistência técnica.

#### **a. O Programa *Plantwise* do CABI**

Na maioria dos casos as áreas rurais na América Latina e no Caribe encontram-se afastadas e são de difícil acesso, dificultando o fornecimento de uma assistência técnica oportuna e a tempo para que os produtores possam realizar um controle eficiente. Desde o ano 2000, como resposta a esta problemática, um serviço de extensão chamado Clínicas de Plantas foi iniciado na Bolívia e tem

se expandido para diferentes países ao redor do mundo, oferecendo assistência técnica aos produtores e ajudando no controle das pragas e doenças que atacam as culturas, apresentando métodos alternativos de controle (BENTLEY; BOA, 2004). Inicialmente as clínicas de plantas operavam em feiras, onde os produtores se concentravam semanalmente (BOA, 2009). Posteriormente, tomando como base o método “ir ao público”, as clínicas se tornaram rotativas, estabelecendo clínicas de plantas móveis nas diferentes áreas rurais (BENTLEY et al., 2003). Em algumas regiões, os produtores dispõem de clínicas de plantas que operam de forma fixa nos centros das cidades ou em feiras, e também das clínicas móveis que assistem aqueles produtores que habitam em zonas rurais de difícil acesso.

O conhecimento dos produtores sobre a identificação do problema da praga e dos métodos de controle é essencial para garantir um controle eficiente com medidas de controle ao menor custo. Alguns produtores já contam com um vasto conhecimento sobre pragas ou doenças devido a sua experiência no campo. Um diagnóstico eficiente do problema leva a um controle eficiente. Muitos dos problemas de aplicações de agrotóxicos de forma incorreta são derivados de um diagnóstico incorreto. Muitos produtores não treinados na identificação das principais pragas do seu cultivo tendem a confundir larvas e outros estados de desenvolvimento dos inimigos naturais com pragas, fazendo aplicações desnecessárias, aumentando o custo da produção e afetando a população dos inimigos naturais.

Como resposta a esta problemática, no início de 2010, o CABI, uma organização de desenvolvimento baseada em ciência, anunciou o lançamento da iniciativa Plantwise, um programa global que visa criar recursos de informações de saúde e sistema de vigilância de plantas, beneficiando os pesquisadores, políticos e agricultores. O conceito Plantwise envolve a construção de um banco de dados

que oferece, em um único ponto de acesso, informações de todas as pragas e doenças de plantas numa região específica. O plano é reunir todas as informações sobre pragas e doenças de plantas, agregar, estruturar, atualizar e tornar essas informações acessíveis para que todos os pesquisadores possam obter informações-chave de diferentes locais. O CABI, em si, já tem em ação um grande número de peças desse quebra-cabeça na forma de dados e publicações, incluindo o CAB Abstracts e o Compêndio de Proteção de Plantas (CPC), juntamente com sua rede de “Clínicas de Saúde de Plantas”.

As clínicas de plantas são conduzidas por pessoas da região, treinadas pelo CABI, e que visitam áreas rurais a cada semana. Essas clínicas, além de fornecer benefícios imediatos para produtores locais, estão se tornando um sistema muito efetivo de alerta precoce de perigo no campo, ajudando a monitorar pragas e doenças e identificar onde os programas de vigilância são mais necessários. Os produtores vão aos mercados com amostras de plantas doentes para procurar assistência técnica na identificação do problema e aprender mais sobre ele.

O protótipo atual do programa permite aos usuários pesquisar por cultura, por pragas, por país, ou mesmo por tipo de solo. O banco de dados também contém imagens para identificação de pragas, descrição de sua relação com a planta hospedeira e detalhes de contato dos serviços locais.

A necessidade de abordar a segurança alimentar global através do desenvolvimento rural é a ideia central da iniciativa Plantwise do CABI. O treinamento dos agricultores de subsistência para obter um controle mais eficiente das pragas e doenças, contribui com a elevação das suas rendas e conseqüentemente resultam em melhor atendimento às necessidades de suas famílias, enquanto contribuem significativamente para a produção de alimentos de seus

países.

A iniciativa Plantwise está sendo impulsionada por uma expansão significativa, trabalhando no âmbito mundial com organizações e instituições como universidades, Ministérios da Agricultura e sistemas de extensão para criar um sistema sustentável e local de saúde de plantas. CABI treina os técnicos como “doutores de plantas” para diagnosticar, oferecer tratamentos e conselhos práticos para os produtores, gratuitamente, através de clínicas de plantas. Na atualidade existem 413 clínicas de plantas sendo implementadas em 31 países.

As Clínicas de Plantas (CPs) são gerenciadas pelo CABI em parceria com Rothamsted Research e Central Science Laboratory. As CPs oferecem serviços de saúde de plantas no mundo todo, trabalhando com pesquisa, extensão, setor privado e governos para tornar o apoio técnico e recomendações disponíveis para todos. O programa liga extensão à pesquisa e promove novas formas de fornecer aos agricultores com menor poder aquisitivo, acesso às melhores tecnologias. Os cursos de formação fortalecem a capacidade necessária para executar as clínicas de plantas regularmente.

As CPs podem ser uma adição valiosa aos serviços existentes de extensão. Elas não foram feitas para serem substitutas dos Laboratórios existentes nas Universidades ou Ministérios, mas sim para trabalhar ao lado deles. Nem tudo pode ser diagnosticado no campo ou nessas sessões das clínicas de plantas, especialmente os vírus e fitoplasmas, assim as interações com centros de diagnóstico nacionais e internacionais são essenciais.

A Figura 1 mostra onde as clínicas de plantas estavam operando no mundo até 2013 (em roxo) e os laboratórios que compõem a rede de diagnóstico (em laranja).



**Figura 1.** Países onde as 400 Clínicas de Plantas do Plantwise estavam operando até 2013.

Fonte: Knowledge Bank- Plantwise, 2014.

Os técnicos que trabalham com as CPs são treinados em uma série de módulos, sendo que para se tornar um doutor de plantas é exigido participar de no mínimo três módulos. Os doutores de plantas estão habilitados a fazer recomendações para os agricultores quanto a ações preventivas, métodos de controle alternativos e, também, quanto ao uso apropriado de agrotóxicos. Como apresentado por Danielsen e Kelly (2010), um dos maiores problemas encontrados pelos “doutores de plantas” está no uso incorreto de agrotóxicos, o que afeta tanto o bolso dos agricultores quanto o ambiente. Os agrotóxicos não são baratos e a aplicação excessiva e desnecessária leva ao desenvolvimento de resistência das pragas. Não é por acaso que os agricultores reclamam que em muitos casos as pragas e doenças não são controladas por produtos químicos.

A chave para o sucesso tem sido coordenar uma equipe de parceiros dispostos e capazes (especialistas das universidades, extensionistas, responsáveis por laboratórios, fornecedores de

agroquímicos), que trabalhem em conjunto e possam dar respostas eficazes e práticas de controle (DANIELSEN; KELLY, 2010).

Uma avaliação de impacto mostrou que agricultores na Bolívia são beneficiados por US\$ 4,00/dia, com um aumento da produção de 25% após receberem as recomendações, aumentando significativamente seus ganhos (BENTLEY et al., 2009). Benefícios adicionais resultantes das Clínicas de Saúde de Plantas são: adoção de melhores práticas agrícolas, melhora e incremento dos valores nutricionais e econômicos das culturas, uso mais apropriado de insumos químicos (agrotóxicos e fertilizantes), geração de microempresas e participação mais efetiva de mulheres nos negócios (já que muitas participam das clínicas de plantas) (BENTLEY et al., 2009).

O elemento final do sistema de saúde de plantas é o fornecimento de insumos. Trabalhos têm sido realizados na Nicarágua, com as “farmácias de plantas” (microempresas que dispõem de produtos menos tóxicos e métodos alternativos de controle), e em Bangladesh, com empresas “eco-amigáveis” ligadas às clínicas de plantas que fornecem produtos menos tóxicos e agentes de biocontrole.

Observações de mais de 400 clínicas de plantas em um banco de dados em tempo real, mostram que o CABI pode, ao longo do tempo, criar um sistema de vigilância mundial de biossegurança, permitindo que previsões de risco de pragas sejam detectadas, e que se possa fazer o planejamento das medidas corretas de controle e com antecedência aos surtos. Hoje não existe um banco de dados global de pragas e doenças e o CABI, portanto, irá facilitar a criação de um sistema de alerta único para destacar as prioridades futuras das pesquisas e a vigilância.

Este banco de dados, em âmbito global, vai reunir dados mundiais sobre culturas, pragas e doenças, apoiados pelas publicações já existentes do CABI, com conteúdo mais amplo e confiável na área

agrícola. Isto será futuramente ampliado com mais dados de parceiros autorizados, como a FAO, IPPC e diversas organizações nacionais de proteção de plantas, como resultados de projetos de pesquisa, conteúdos de livros e informações do Poder Legislativo. No nível mais básico, essa junção de dados em um único local vai economizar tempo para pesquisadores e extensionistas que precisam de acesso a tais informações em uma base regular. O banco de dados está constituído por fichas simples, descrições de pragas, imagens e manuais de informações ao agricultor que podem ser arquivados e prontamente acessados gratuitamente pelo público em âmbito mundial, oferecendo benefícios imediatos para os agricultores e extensionistas.

O protótipo Plantwise está agora online na web e pode ser acessado pelo endereço [www.plantwise.org](http://www.plantwise.org). Este recurso destina-se a responder questões importantes relacionadas a pragas e doenças de plantas no mundo todo. Com os dados de distribuição de mais de 3.000 pragas e doenças, relacionados a dados geográficos como clima e solo, o Plantwise ajuda a tomar decisões sobre culturas e manejar o risco de pragas.

O protótipo está focado inicialmente na construção de informações detalhadas de um número limitado de culturas (café, cacau, algodão, palmeiras, arroz, trigo, milho, girassol, pimenta e banana) e dados importantes como distribuição de pragas (localização geral) com relação com as zonas climáticas para poder avaliar o deslocamento de pragas devido a mudanças climáticas.

Com a implementação das clínicas de plantas na região, mais produtores têm acesso a assistência técnica e são introduzidos ao uso de bioprodutos, entendendo de melhor forma os processos biológicos envolvidos para que funcionem eficientemente. Com isto o programa está ajudando a reforçar a segurança alimentar dos países da região onde está sendo implementado, através da redução das perdas cau-

sadas pelo ataque de pragas e doenças e controle adequado.

### **b. Experiência do CIAT ao promover o controle biológico na produção de frutas tropicais**

Nos países em desenvolvimento, a produção de frutas tropicais não tradicionais gera oportunidades de renda e emprego, apoia a subsistência local e constitui a base para um agronegócio emergente. Em contraste com as frutas tradicionais, tais como manga (*Mangifera indica* L.), abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merr.), mamão (*Carica papaya* L.) e abacate (*Persea americana* L.) e culturas como bananas e frutas cítricas, as frutas não tradicionais ainda recebem comparativamente pouca atenção da pesquisa. No entanto, estão sendo consumidas e comercializadas em um nível cada vez maior. Na Colômbia, 95% da produção deste tipo de frutas estão nas mãos de pequenos produtores, que têm poucos recursos financeiros e muitas vezes são esquecidos pelos programas de extensão dos governos. Apesar da ampla perspectiva de mercado destes cultivos de frutas, a produção paralisada, os sistemas de manejo incorretos e as barreiras fitossanitárias impedem que os pequenos produtores possam se beneficiar plenamente das oportunidades do mercado atual.

Além do efeito direto dos problemas fitossanitários sobre a produção de frutas não tradicionais, também requer a necessidade da aplicação de agrotóxicos de alto custo e reforça as restrições de quarentena em mercados estrangeiros. Na Colômbia, mais de 8.000 hectares de diversas espécies de maracujá (*Passiflora* spp.) são explorados comercialmente e produzidos principalmente por pequenos produtores com recursos limitados em áreas rurais mais desfavorecidas e voláteis. Dentre as pragas-chaves nesta cultura incluem-se as moscas-dos-botões-florais (Diptera: Lonchaeidae), mas existe pouca informação sobre sua biologia, ecologia e manejo. Enquanto isso, informações incompletas sobre a suscetibilidade

dos cultivos às moscas de frutas da família Tephritidae têm causado limitações das exportações de frutas frescas para o lucrativo mercado norte-americano. Produtores locais têm grandes perdas de produção devido ao ataque de pragas, das quais não possuem muita informação (WYCKHUYS et al., 2011, 2012).

Em 2008, pesquisadores do CIAT trabalharam em conjunto com universidades locais e associações de produtores para desenvolver opções rentáveis, sustentáveis e ambientalmente amigáveis de manejo de pragas para produtores locais de maracujá. Levantamentos de campo realizados de 2008 a 2010 nas principais regiões de produção de maracujá forneceram informações do complexo da praga, da dinâmica populacional e dos padrões geográficos de infestação. Um grande complexo de espécies de moscas-dos-botões-florais foi associado ao cultivo de maracujá, afetando brotos, flores ou frutas, e chegando à infestação de 40% da região. Questionários de campo aplicados a mais de 200 produtores não encontraram nenhuma evidência do ataque de pragas quarentenárias, como as moscas-das-frutas da família Tephritidae. Para confirmar o estado de hospedeiro da cultura de maracujá com relação a uma das pragas quarentenárias mais notórias, a mosca-do-Mediterrâneo *Ceratitis capitata* (Weid), os trabalhos de campo foram complementados com testes de laboratório. Até agora, não foi encontrada nenhuma evidência de que o maracujá roxo é um hospedeiro de *C. capitata*, de modo que as restrições de quarentena para este complexo de moscas-das-frutas para o mercado norte-americano deve ser revisado (RENGIFO et al., 2011).

Posteriormente, uma pesquisa nacional aplicada aos agricultores foi realizada para se ter idéia do conhecimento agroecológico e de manejo dos produtores locais. Além do uso quase universal de aplicações de inseticidas com base em calendários de aplicação, os produtores experimentaram armadilhas, usando iscas de baixo custo. Alguns agricultores também inventaram iscas tóxicas em aeros-

sol e algumas práticas sanitárias. Usando a pesquisa participativa em cinco comunidades agrícolas, algumas destas inovações locais foram comparadas a práticas de manejo definidas cientificamente. Assim, os agricultores descobriram que algumas de suas práticas de manejo eram ineficientes no controle da praga, enquanto outras eram muito mais eficazes e menos caras do que a prática atual de aplicação de agrotóxicos.

As experiências dos produtores foram documentadas utilizando vídeos que atualmente são projetados para várias comunidades durante "noites de cinema agrícola". Dado o uso indiscriminado de agrotóxicos para controlar as pragas de seus cultivos, foram realizados estudos em colaboração com a Universidade Nacional da Colômbia para quantificar a suscetibilidade das plantas de maracujá ao ataque de moscas-dos-botões-florais. O ataque das moscas foi imitado com a remoção artificial de um bom número de botões florais por planta, e a colheita resultante foi registrada. A pesquisa mostrou que as plantas de maracujá efetivamente compensaram a perda de botões florais, e só mostraram quedas acentuadas na produção em níveis relativamente altos de dano. Estes resultados são atualmente utilizados para formular os níveis de dano econômico através dos quais se justifica o uso de inseticidas. Isto pode ajudar os produtores a mudarem seus padrões atuais de manejo de pragas, que são caros e prejudiciais ao meio ambiente e à saúde, tanto as suas próprias, como a de seus consumidores.

Com este projeto de pesquisa, especialistas do CIAT e as instituições nacionais parceiras elucidaram o complexo de pragas-chave associadas ao maracujá, determinando a suscetibilidade do cultivo a pragas de quarentena e estabeleceram a base para manejo integrado desse cultivo. O foco comum social e ecológico do projeto se mostrou altamente eficiente na identificação de alternativas de manejo de pragas e os mesmos podem ser promovidos no futuro com pequenos produtores locais em assentamentos rurais. Por ou-

tro lado, a ausência de moscas de frutas da família Tephritidae nestas culturas pode gerar novas oportunidades de mercado tangíveis para os pequenos produtores de maracujá na Colômbia e outros países da região (WYCKHUYS et al., 2012).

### **c. Experiências regionais na geração e transferência de tecnologias de MIP e de controle biológico**

A seguir apresentaremos o trabalho realizado por algumas instituições da região que trabalham na geração de tecnologia e transferência de conhecimento na área de MIP e de controle biológico:

- » Universidade Zamorano - PROMIPAC (Programa de Manejo Integrado de Pragas para a América Central)

A Universidade de Zamorano, em Honduras, liderou o Programa de Manejo Integrado de Pragas para a América Central - PROMIPAC, o qual foi implementado em Honduras, Nicarágua e Salvador, com financiamento da Corporação Suíça de Desenvolvimento (COSUDE). A ideia central do programa consistia em levar Boas Práticas Agrícolas até os produtores, bem como métodos alternativos de controle, dentro do contexto de Manejo Integrado de Pragas.

Para implementar o PROMIPAC foram estabelecidas redes de trabalho na América Central, uma vez que o objetivo principal consistiu em “reforçar a capacidade das instituições agrícolas públicas e privadas na América Central para que pudessem prestar melhor apoio aos produtores na implementação do MIP” (TRUTMANN; BENTLEY, 2003). Neste caso as escolas de campo (ECAs) foram utilizadas como o método de transferência da tecnologia agrícola. O programa foi implementado trabalhando com as culturas de maior importância na região e as mais utilizadas pelos pequenos produtores. Desta forma, foram documentadas, publicadas e disponibilizadas as experiências realizadas nessas culturas na transferência

de metodologias de MIP (PROMIPAC-ASOCAM, 2003). Como resultado, o programa levou a adoção de vários componentes MIP por parte dos agricultores, tendo uma redução na aplicação de agrotóxicos, treinamento de 1400 estudantes de escolas técnicas e universidades com metodologia de MIP com o uso de ECAs, ampla distribuição de material relevante na área de MIP, e incorporação dos pequenos produtores nas cadeias produtivas (TRUTMANN; BENTLEY, 2003).

» Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa

A Embrapa é umas das instituições mais relevantes na geração de tecnologia agrícola na América Latina. Vinculada ao Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), trabalha em conjunto com instituições parceiras no país para a geração de tecnologias que ajudam a aumentar a produção agrícola nacional e a enfrentar os desafios que se apresentam no Brasil na área agropecuária. A Embrapa possui 46 unidades no país, desenvolvendo trabalhos nas diferentes culturas (EMBRAPA, 2014b).

A Embrapa visa tornar as tecnologias que são geradas na instituição acessíveis aos agricultores, e com este intuito, trabalha com a transferência de tecnologia e intercâmbio de conhecimento através de cursos técnicos nas diferentes áreas de atuação, voltados aos estudantes, profissionais da área, técnicos de extensão, e através da articulação e desenvolvimento de uma rede de trabalho com organizações públicas e privadas (EMBRAPA, 2014c). A Embrapa tem aberto um espaço para que os produtores rurais possam obter materiais informativos de alta qualidade desenvolvidos na área agropecuária. Os materiais são desenvolvidos para facilitar uma compreensão por parte dos agricultores. Utiliza uma linguagem simples e ilustrações que os ajudem a ter melhor entendimento na coleção chamada “500 perguntas – 500 respostas” (EMBRA-

PA, 2014d), bem como outras publicações de interesse (ALMEIDA, 2000). Como exemplo, Henz *et al.* (2007) apresentam, de uma forma simples, os agentes de controle biológico através de um e-book produzido pela Embrapa Informação Tecnológica. A Embrapa também disponibiliza material bibliográfico através da sua rede de bibliotecas e Livraria Embrapa (EMBRAPA, 2014e). Este tipo de material bibliográfico pode ser utilizado em outros países da região que estejam familiarizados com o idioma, contribuindo para aumentar o acesso dos produtores às tecnologias agrícolas na região.

» Instituto Biológico

O Instituto Biológico (IB) localizado no estado de São Paulo, Brasil, tem 86 anos de contribuição em pesquisa nas áreas de sanidade vegetal e animal. Uma de suas áreas principais de pesquisa é o controle biológico de pragas na agricultura. O IB tem feito um trabalho de transferência de tecnologia para o controle biológico com os fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* IBCB 66 para o controle de *Cosmopolites sordidus*, *Tetranychus urticae*, *Bemisia tabaci* e *Metarhizium anisopliae* IBCB 425 para o controle de cigarrinha-da-raiz da cana e cigarrinhas-das-pastagens. Ambos estão na lista para registro de produtos para a agricultura orgânica do MAPA. A transferência é realizada através do treinamento de técnicos e empresários interessados na produção de bioinseticidas à base desses fungos por fermentação sólida em arroz, além da assessoria na manutenção dos isolados, projeto da indústria e documentação para registro.

Atualmente o IB assessoria 24 empresas brasileiras, sendo que *M. anisopliae* é o mais produzido e aplicado em cana-de-açúcar numa área total de 350 mil ha só no estado de São Paulo, chegando a 700 mil ha no Brasil (ALMEIDA; BATISTA FILHO, 2006; ALMEIDA *et al.*, 2007; LEITE *et al.*, 2003). Para realizar o trabalho de trans-

ferência de tecnologia, o IB trabalha em parceria com instituições públicas e privadas (Informativo do Instituto Biológico, 2009). O IB também disponibiliza material bibliográfico como boletins técnicos e outras publicações, contribuindo para que a informação de tecnologia gerada seja mais acessível (INSTITUTO BIOLÓGICO, 2014).

### **Considerações finais**

Apesar dos desafios que devem ser enfrentados na implementação de programas de controle biológico eficientes com a participação ativa dos produtores na América Latina e no Caribe, existem oportunidades latentes, disponibilidade e interesse dos produtores e dos governos dos países da região de testar métodos alternativos de controle que sejam eficientes, seguros e de custos razoáveis, assim como a crescente preocupação e exigência da população por produtos inócuos de melhor qualidade.

A aproximação e trabalho em conjunto entre pesquisadores, extensionistas e produtores representam um fator chave no sucesso da implementação de programas de controle biológico, e é possível contanto que sejam abertos sistemas de troca de informação e consolidação de um Sistema Nacional de Saúde de Plantas tendo a participação dos principais setores agrícolas do país. Os governos desempenham um papel muito importante para a implementação de programas de controle biológico, ao criar políticas que levem ao uso das boas práticas agrícolas e ao estabelecerem sistemas de assistência técnica mais eficientes. Além disso, é preciso abrir oportunidades e incentivos para que se continue trabalhando no setor agrícola de forma sustentável, mantendo a produção agrícola nacional e fortalecendo, desta forma, a segurança alimentar dos países da América Latina e do Caribe.

## Referências

- ABATE, T.; VAN HUIS, A.; AMPOFO, J.K.O. Pest management strategies in traditional agriculture: an African perspective. **Annual Review of Entomology**, v. 45, 631-659, 2000.
- ALEXANDRATOS, N.; BRUINSMA J. World agriculture towards 2030/2050: the 2012 revision. ESA Working paper No. 12-03. Roma, FAO. 2012.
- ALMEIDA, M. P. L. O. Sai para lá praga!. Ciência Hoje das Crianças. Setembro 2000. Disponível em: <http://www.cnps.embrapa.br/search/mirims/mirim02/praga.htm>
- ALMEIDA, J.E.M.; A. BATISTA FILHO. Controle biológico da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar com o fungo *Metarhizium anisopliae*. **Boletim Técnico Instituto Biológico**, n. 16, 2006, 19 p.
- ALMEIDA, J.E.M.; BATISTA FILHO; V.A. COSTA; L.G. LEITE. Manejo de pragas das pastagens. **Boletim Técnico Instituto Biológico**, n. 21, 2007, 25 p.
- ALTIERI, M.A. (ed) **Crop Protection Strategies for Subsistence Farmers**. Westview Press, Boulder, Colorado, 1993. 197p.
- ALTIERI, M.A. **Agroecology: the science of sustainable Agriculture**. Westview Press, Boulder, Colorado, 1995. 433p.
- ALTIERI, M. A.; TRUJILLO, J.; CAMPOS, L.; KLEIN-KOCH, C.; GOLD, C.; QUEZADA, J. **El control biológico clásico en América Latina en su contexto histórico**. Manejo Integrado de Plagas. v. 12. 82-107. 1989.
- ALVES, S. B.; LOPES, R. B.; PEREIRA, R.M.; TAMAI, M. A. O controle microbiano na América Latina. In: ALVES, S. B.; LOPES, R. B. (Eds). **Controle Microbiano de pragas na América Latina- Avanços e Desafios**. Piracicaba: FEALQ, 2008. p.21-48.
- ASSOCIAÇÃO NACIONAL DE DEFESA VEGETAL – ANDEF. **Manual de tecnologia de aplicação de produtos fitossanitários**. São Paulo: ANDEF, 2010. 50p.
- AVILA, C. J.; VIVAN, M. L.; TOMQUELSKI, G. V. Ocorrência, aspectos biológicos, danos e estratégias de manejo de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) nos sistemas de produção agrícolas. Disponível em: [http://www.cnpsa.embrapa.br/caravana/pdfs/FINAL\\_Circular\\_Tecnica\\_23\\_CPAO\(1\).pdf](http://www.cnpsa.embrapa.br/caravana/pdfs/FINAL_Circular_Tecnica_23_CPAO(1).pdf), 2013.

BELLON, M.R. Farmers knowledge and sustainable agroecosystem management: an operational definition and an example from Chiapas, Mexico. **Human Organization**, v.54, p.263–272, 1995.

BENNETT, F. D. 1984. The Commonwealth Institute of Biological Control in integrated pest management programs in Latin America. pp. 106-117. In: G. Allen and A. Rada (coordinators). *Proceeding of the Internatioanl Symposium: The Role of Biological Control in Pest Management*. IOBC/WHRS. 173 pp.

BENTLEY, J.; BOA, E. **Clínica comunitária para la salud de plantas**. CABI GPC Report. 2004. 16p.

BENTLEY, J.; BOA, E.; VAN MELE, P.; ALMANZA, J.; VASQUEZ, D.; EGUINO, S. Going public: A new extension method. **International Journal of Agricultural Sustainability**, v.1, p.108-123, 2003.

BENTLEY, J.W. 2009. Impact of IPM extension for smallholder farmers in the Tropics. In: R. PESHIN, A.K. DHAWAN (Eds.) **Integrated Pest Management: Dissemination and Impact**. Springer, Germany, 2009. p.333-346.

BENTLEY, J.W. Alternatives to pesticides in Central America: applied studies of local knowledge. **Culture and Agriculture**, v.44, p.10-13, 1992.

BENTLEY, J.W. Folk experiments. **Agriculture and Human Values**, v.23 p.4. 2006.

BENTLEY, J.W. What farmers don't know can't help them: the strengths and weaknesses of indigenous technical knowledge in Honduras. **Agriculture and Human Values**, v.6, p.25–31, 1989.

BENTLEY, J.W.; BOA, E.; DANIELSEN, S.; FRANCO, P.; ANTEZANA, O.; VILLARROEL, B.; RODRÍGUEZ, H.; FERRRUFINO, J.; FRANCO, J.; PEREIRA, R.; HERBAS, J.; DÍAZ, O.; LINO, V.; VILLARROEL, J.; ALMENDRAS, F.; COLQUE, S. Plant health clinics in Bolivia 2000—2009: operations and preliminary results. **Food Security**, 2009. DOI 10.1007/s12571-009-0033-z.

BENTLEY, J.W.; GRAHAM, T. Bibliography: Farmer knowledge and management of crop disease. **Agriculture and Human Values**, v.16, p. 75–81, 1998.

BENTLEY, J.W.; RODRÍGUEZ, G. Honduran folk entomology. **Anthropology Research**, v.42, p. 285-301. 2001.

BENTO, J. M. S.; DE MORAES, G.J.; DE 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.S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 395-408.

BERGVINSON, D. Opportunities and Challenges for IPM in Developing Countries. In O. KOUL, G.S. DHALIWAL AND G.W. CUPERUS (Eds). **Integrated Pest Management: Potential, Constraints and Challenges**. CAB International. Wallingford. UK, 2004. p. 281-312.

BIONET-INTERNATIONAL. The Global Network for Taxonomy. Disponível em <http://www.bionet-intl.org>. 2003.

BOA, E. How the Global Plant Clinic began. **Outlooks on Pest Management**, v.20, p.1120-116, 2009.

BRAUN, A.R.; THIELE, G.; FERNANDEZ, M. **Farmer field schools and local agricultural research committees: complementary platforms for integrated decision-making in sustainable agriculture**. ODI Network Paper 105. 2000.

CAMPANHOLA, C.; DE MORAES, G.J.; DE SÁ, L.A.N. Review of IPM in South America. In: MENGECH, A.N., SAXENA, K.N.; GOPALAN, H.N.B (eds) **Integrated Pest Management in the tropics: Current Status and Future Prospects**. John Wiley e Sons, New York, 1995, p. 117-152.

CABI. Video: Plantwise Plant Clinic in Action. Disponível em: <http://www.cabi.org/about-cabi/cabi-centres/brazil/>, 2013.

CATIE. **Publicaciones**. Disponível em <http://catie.ac.cr/en/>, 2014.

COLMENAREZ, Y.; GIBBS, I.; CIOMPERLIK, M. A. **Challenges and successes in the commercialization and use of biological control agents in the Caribbean**. Joint IOBC – Nearctic and Neotropical Regional Sections Conference: “Biocontrol in the Americas – Past, Present and Future”. Niagara Falls. May 11-13, 2010.

CONFRAS – Confederación de Federaciones de la Reforma Agraria Salvadoreña. **Multimedia**. Disponível em: <http://www.confras.com/multimedia.html>, 2011.

CONROY, M.E.; L.D. MURRAY; P.M. ROSSET. **A Cautionary Tale: Failed U.S. Development Policy in Central America**. Boulder, Colorado: Lynne Rienner Publishers. 1996.

CONVENTION ON BIOLOGICAL DIVERSITY. The Nagoya Protocol on Access and Benefit-sharing. Disponível em: <https://www.cbd.int/abs/>, 2014.

CROPLIFE. **Croplife International**. Disponível em: [HTTP://www.croplife.org](http://www.croplife.org), 2003.

CUÉLLAR, N., KANDEL, S. **Programa Campesino a Campesino de Siuna, Nicaragua. Contexto, Logros y Desafíos**. Nicaragua: CIFOR-PRISMA, 2007. 54p.

CUTLER, H. G.; CUTLER, S. J. **Biological Active Natural Products: Agrochemicals**. CRS Press, Boca Raton, USA. 1999.

DANIELSEN, S.; KELLY, P. A novel approach to quality assessment of plant health clinics. **International Journal of Agricultural Sustainability**, v.8, p.257-269, 2010.

DANIELSEN, S.; CENTENO, J.; LÓPEZ, J.; LEZAMA, L.; VARELA, G.; CASTILLO, P.; NARVÁEZ, C.; ZELEDÓN, I.; PAVÓN, F.; BOA, E. Innovations in plant health services in Nicaragua: From grassroots experiment to a systems approach. **Journal of International Development**. Disponível em: ([wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com)) DOI: 10.1002/jid.1786, 2011.

DOLLY, D. An assessment of the implementation and outcomes of recent farmer field schools to improve vegetable production in Trinidad and Tobago. **Journal of International Agricultural Education and Extension**, V. 16, n. 2, p. 7-19, 2009.

DRIESCHE, R.G. van; HODDLE, M.S. Classical arthropod biological control: success, step by step. In: GURR, G., WRATTEN (Eds.) **Biological control: measures of success**. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, p. 39-75, 2000.

EKBOIR, J. **CIMMYT 2000-2001 World Wheat Overview and Outlook: Developing Non-till packages for small-scale farmers**. CIMMYT, Mexico, DF, 2002, 65 p.

EMBRAPA. Publicações e Artigos. Disponível em: <http://www.sct.embrapa.br/publicacoes/>, 2014a.

EMBRAPA. Embrapa no Brasil. Disponível em: <https://www.embrapa.br/embrapa-no-brasil>, 2014b.

EMBRAPA. Transferência de Tecnologia e Intercâmbio de Conhecimento. Disponível em: <https://www.embrapa.br/transferencia-de-tecnologia>, 2014c.

EMBRAPA. Produtor. Disponível em: <https://www.embrapa.br/produtor>, 2014d.

EMBRAPA. Livraria Embrapa. Disponível em: <http://vendasliv.sct.embrapa.br/liv4/principal.do?metodo=iniciar>

EL DIARIO DE HOY. Agricultores necesitan de mayor asistencia técnica. Disponível em: <http://www.elsalvador.com/noticias/2005/06/24/elpaís/país5.asp>, 2005.

FAOSTAT. **FAOSTAT Agricultural Data**. Rome. Disponível em: <http://apps.fao.org/page/collections?subset=agriculture>, 2014.

FAO -PESA. Las Escuelas de Campo para Agricultores (ECAs) en el PESA-Nicaragua. Disponível em: [http://www.pesacentroamerica.org/biblioteca/manua\\_ECAs.pdf](http://www.pesacentroamerica.org/biblioteca/manua_ECAs.pdf), 2005.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BATISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002, 920p.

Haji, F. N. P. **Nova praga do tomateiro no vale do Salitre, no estado da Bahia. Petrolina**, Embrapa, CPATSA, 2p. (Comunicado Técnico, 10). 1982.

HENZ, G. P.; DE ALCÂNTARA, F. A.; RESENDE, F. V. **Produção orgânica de hortaliças: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. HENZ, G. P.; DE ALCÂNTARA, F. A.; RESENDE, F. V (Eds) . Brasília, DF :Embrapa Informação Tecnológica, 2007. 308p.

HERREN, H.R.; NEUENSCHWANDER, P.; HENNESSEY, R.D.; HAMMOND, W.N.O. Introduction and dispersal of *Epidinocarsis lopezi* (Hom., Pseudococcidae) in Africa. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.19, p. 131 -144, 1987.

HRUSKA, A.J.; CORRIOLS, M. The impact of training in integrated pest management among Nicaraguan maize farmers. **International Journal of Occupational and Environmental Health**, v. 8, p. 191–200, 2002.

INFORMATIVO DO INSTITUTO BIOLÓGICO. **IB firma parceria com a Prefeitura de Bastos**. - Ano 10 - Número 33. 2009. Disponível: [http://www.biologico.sp.gov.br/bioin\\_n33.php](http://www.biologico.sp.gov.br/bioin_n33.php)

INSTITUTO BIOLÓGICO. **Boletins técnicos e outras publicações**. Disponível em: [http://www.biologico.sp.gov.br/outras\\_publicacoes.php](http://www.biologico.sp.gov.br/outras_publicacoes.php), 2014.

KATES, R.W.; CLARK, W.C.; CORELL, R.; HALL, J.M.; JAEGER, C.C.; LOWE, I.; MCCARTHY, J.J.; SCHELLNHUBER, H.J.; BOLIN, B.; DICKSON, N.M.; FAUCHEUX, S.; GALLOPIN, G.C.; GRÜBLER, A.; HUNTLEY, B.; JÄGER, J.; JODHA, N.S.; KAPERSON, R.E.; MABOGUNJE, A.; MATSON, P.; MOONEY, H.; KHAN,

Z.R.; PICKETT, J.A.; WADHAMS, L.; MUYEKHO, F. Habitat management strategies for the control of cereal stemborers and striga in maize in Kenya. *Insect Science and its Application*, 21, 375- 380. 2001.

KIRITANI, K.; NAKASUJI, F. **Battle with insect pests: from control towards management**. NHK Publishing Company, Tokyo, 1977. 229p.

KISS, A. Pest management needs and trends in Africa today. International Food Policy Research Institute. Workshop on Pest Management, Food Security, and the Environment: the Future to 2020. May 10-11, Nairobi, Kenya. 1995.

KOUL, O. Neem research and development: present and future scenario. In: HAN-DA, S.S. AND KOUL, M.K. (eds) **Supplement to Cultivation and Utilization of Medicinal Plants**. PID, CSIR, New Delhi, p. 583-611, 1996.

LAZO, M. P.; TRAVAGLINI, A. L.; OCHOA, R. V.; HERNANDEZ, E. C.; SEGOVIA, I. Integrated Pest Management in Peru. In: MAREDA, K. M.; DAKOUO, D.; MOTA-SANCHEZ, D. (Eds). **Integrated Pest Management in the global arena**. CAB International, London, 2003, p.301-312.

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.

LAZARO, A.A.; HEONG, K. L., CANAPI, B.; GAPUD, V.; NORTON, G.W. Farmers' Pest Management Knowledge, Attitude and Practices in San Jose, Philippines: a Baseline Survey. Integrated Pest Management Collaborative Research Support Program (IPM CRSP), Working Paper 95-2. Virginia Tech., Blacksburg, Virginia. 1995.

LEITE, L.G; BATISTA FILHO, A; ALMEIDA, J.E.M; ALVES, S.B. (eds.). **Produção de fungos entomopatogênicos**. Sene: Ribeirão Preto, SP, 92 p., 2003.

LOCKE, J.C.; MAROIS, J.J.; PAPAVIDAS, G.C. Biological control of Fusarium wilt of greenhouse-grown chrysanthemums. **Plant Dis.**, v.69, p.167-169, 1985.

LOPES, R. B. A indústria no controle biológico: Produção e comercialização de microrganismos no Brasil. In: MORANDI, M. A. B.; WAGNER, B. (eds). **Bio-controle de doenças de plantas: Uso e Perspectivas**. Embrapa Meio Ambiente, Jaguariuna, 2009. p. 15-28.

MOTA-SANCHEZ, D.; GONZALEZ, F. S.; ALVARADO-RODRIGUEZ, B.; DIAZ-GOMEZ, O.; MOJICA, H. B.; MARTINEZ, G. S.; BUJANOS, R. Integrated Pest

Management in Mexico. In: MAREDA, K. M.; DAKOUO, D.; MOTA-SANCHEZ, D. (Eds). **Integrated Pest Management in the global arena**. CAB International, London, 2003, p.273- 284.

LOPEZ, V.; RAMROOP, D.; VOS, J.; KAIRO, M. **Discovery Learning Manual for Pest Management in the Caribbean- Cabbage and Tomato**. Trinidad and Tobago , CAB International, 2004. 341p.

MAHIRI, I. O. The environmental knowledge frontier: transects with experts and villages. **Journal of International Development**, v.10, p.527–537, 1998.

MATUO, T. **Técnicas de aplicação de defensivos agrícolas**. Jaboticabal, FUNEP. 1990. 133p.

MAUMBE, B.; BERNSTEN, R.; NORTON, G. Social and Economic Considerations in the Design and Implementation of Integrated Pest Management in Developing Countries. In: MAREDA, K.M.; DAKOUO, D.; MOTA-SANCHEZ, D. (eds). **Integrated Pest Management in the Global Arena**. CAB International, London, 2003, p. 87-95.

MENDONÇA FILHO, A.F.; RISCO S.H.B.; COSTA, J.M.B. 1977. Introduction and rearing of *Apanteles flavipes* Cameron (Hym.: Braconidae) in Brazil. In Proceedings of the 19th Congress of International Society of Sugarcane Technologists, São Paulo.

MORALES, H.; I. PERFECTO. Traditional knowledge and pest management in the Guatemalan highlands. **Agriculture and Human Values**, v. 17, p.49–63, 2000.

MORANDI, M. A. B.; WAGNER, B. Controle Biológico de doenças de plantas no Brasil. In: MORANDI, M. A. B.; WAGNER, B. (eds). **Biocontrole de doenças de plantas: Uso e Perspectivas**. Embrapa Meio Ambiente, Jaguariuna, 2009. p. 7-14.

NEUENSCHWANDER, P.; HAMMOND, W.N.O.; AJUONU, O.; GADO, A.; ECHENDU, N.M.; BOKONON-GANTA, A.H.; ALLOMASSO, R.; OKON, I. Biological control of the cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti* climate and soil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 32, p.39-55, 1990.

NICHOLLS, C. I.; M. A. ALTIERI. Conventional agricultural development models and the persistence of the pesticide treadmill in Latin America. **International Journal of Sustainable Development and World Ecology**, v. 4, p.93–111, 1997.

OERKE, E.C.; DEHNE H.W. Safeguarding production losses in major crops and the role of crop protection. **Crop Protection**, v.23, p.275-285, 2004.

OLUFOLAJI, D. B. Prospects of large-scale use of natural products as alternatives to synthetic pesticides in developing countries. In: DUBEY, N. K (Ed). **Natural products in plant pest management**. CAB International. 2011. p. 191- 204.

OOI, P.A.C. Experiences in educating rice farmers to understand biological control. **Entomophaga**, v.41, p. 375–385, 1996.

OOI, P.A.C.; KENMORE, P. E. **Impact of educating farmers about biological control in farmer field schools**. International Symposium of biological Control of Arthropods. v.1, 6. p. 277- 342, 2005.

PARRA, J.R.P. Comercialização de inimigos naturais no Brasil: Uma área emergente. 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. 343-349.

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. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 1-16.

PLANTWISE. Empowering farmers, powering research - delivering improved food security. Disponível em: <http://www.Plantwise.org/default.aspx?site=234&page=4268>, 2014.

PLANTWISE. Plantwise supporting implementation of the International Code of Conduct on Pesticide Management. Disponível em: <http://blog.Plantwise.org/2013/07/22/Plantwise-supporting-implementation-of-the-international-code-of-conduct-on-pesticide-management/>, July 22, 2013.

PRICE, L.M.L. Demystifying farmers' entomological and pest management knowledge: a methodology for assessing the impacts on knowledge from IPM-FFS and NES interventions. **Agriculture and Human Values**, v.18, p.153-176, 2001.

PROINPA, Biblioteca virtual agrícola. Disponível em: <http://www.proinpa.org/tic/>, 2014.

PROMIPAC-ASOCAM. Manual herramientas de enseñanzas. Disponível em: [http://www.asocam.org/portal/sites/default/files/publicaciones/archivos/BIBLIOTECA\\_0238.pdf](http://www.asocam.org/portal/sites/default/files/publicaciones/archivos/BIBLIOTECA_0238.pdf). 135p. 2003.

RAMOS, J. F. Metodologia de Campesino a Campesino. Disponível em: [http://confras.com/documentos/2/5/Notas\\_sobre\\_pcac.pdf](http://confras.com/documentos/2/5/Notas_sobre_pcac.pdf) . 3p. 2013.

PTCCB – Pesticides and Toxic Chemicals Control Board. Disponível em: <http://ptccb.org.gy/pGroup.html>, 2009.

RENGIFO J.A.; GARCIA J.G.; RODRIGUEZ J.F.; WYCKHUYS K.A.G. Host status of purple passionfruit for the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). **Florida Entomologist**, v.94, p.91-96, 2011.

ROLING, N.; FLIERT, E. van de. Transforming extension for sustainable agriculture: The case of Integrated Pest Management in rice in Indonesia. **Agriculture and Human Values**, v.11, p.96-108, 1994.

SANTOS, J. M. F. Aplicação correta gera mais lucro e causa menos danos ao ambiente. **DBO Agrotecnologia**, São Paulo, p. 11 - 24, 2004.

SEGURA, H.R.; BARRERA, J.F.; MORALES, H.; NAZAR, A. Farmers' Perceptions, Knowledge, and Management of Coffee Pests and Diseases and Their Natural Enemies in Chiapas, Mexico. **Journal of Economic Entomology**, v. 97, p.1491-1499, 2004.

SCHUMUTTERER, H. **The Neem Tree: Source of Unique Natural Products for Integrated Pest Management, Medicine, Industry and Other Purposes**. Ed. ed. H. Schmutterer, VCH Weinheim, Germany, 1995, 716 pp.

SIMMONDS, N.W. **Evaluation of Crop Plants**. 1<sup>st</sup> edn. Longman, New York, 1976, 339 p.

SPADARO, D.; GULLINO, M.L. Improving the efficacy of biocontrol agents against soilborne pathogens. **Crop Protection**, v.24, p.601–613, 2005.

SUMBERG, J.E.; C. OKALI. **Farmer's Experiments: Creating Local Knowledge**. Boulder, Colorado: Lynne Rienner. 1997.

TRUTMANN, P.; BENTLEY, J. **Mid-term evaluation of the 'Programa de Manejo Integrado de Plagas en América Central' (PROMIPAC)**. Swiss Agency for Humanitarian Aid and Development Cooperation (SDC), 2003, 83p.

UNEP. State of Biodiversity in Latin America and the Caribbean. Disponível em: [http://www.unep.org/delc/Portals/119/LatinAmerica\\_StateofBiodiv.pdf](http://www.unep.org/delc/Portals/119/LatinAmerica_StateofBiodiv.pdf), 2010a.

UNEP. **FAO and pesticide risk reduction**. ACP MEAS Newsletter. v.2-2, 2010. Disponível em: [http://www.acpmeas.info/publications/ACP\\_MEAs\\_Newsletter\\_Vol2\\_Issue2.pdf](http://www.acpmeas.info/publications/ACP_MEAs_Newsletter_Vol2_Issue2.pdf), 2010b.

WILLIAMSON, S. Understanding natural enemies: a review of training and information in the practical use of biological control. **Biocontrol News and Information**, v.19, p.117N-126N, 1998.

WORLD BANK. Integrated Pest Management: Strategies and Policies for Effective Implementation. Environmentally Sustainable Development Studies and Monograph Series N°13. World Bank, Washington, DC. 1997.

WYCKHUYS, K.A.G.; LOPEZ, F.; ROJAS, M.; OCAMPO, J.A. Do farm surroundings and local infestation pressure relate to pest management in three cultivated *Passiflora* species in Colombia? **International Journal of Pest Management**, v. 57, p.1-10, 2011a.

WYCKHUYS, K.A.G.; O'NEIL, R.J. Local agro-ecological knowledge and its relationship to farmers' pest management decision making in rural Honduras. **Agriculture and Human Values**, v.24, p.307–321, 2007a.

WYCKHUYS, K.A.G.; O'NEIL, R.J. Role of opinion leadership, social connectedness and information sources in the diffusion of IPM in Honduran subsistence maize agriculture. **International Journal of Pest Management**, v.53, p.35-44, 2007b.

WYCKHUYS, K.A.G.; KORYTKOWSKI, C.; MARTINEZ, J.; HERRERA, B.; ROJAS, M.; OCAMPO, J. 2012. Species composition and seasonal occurrence of *Diptera* associated with passionfruit crops in Colombia. **Crop Protection**, 32, 90-98.

WYCKHUYS, K.A.G., LOPEZ, F., ROJAS, M., OCAMPO, J. 2011. The relationship of farm surroundings and local infestation pressure to pest management in cultivated *Passiflora* species in Colombia. **International Journal of Pest Management** 57, 1-10.

ZAMBOLIM, L.; CONCEIÇÃO, M.Z.; SANTIAGO, T. **O que os engenheiros agrônomos devem saber para orientar o uso de produtos fitossanitários**. Viçosa: UFV, 2003. 376p.

ZUCCHI, R. A taxonomia e o controle biológico de pragas. 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. 17-27.

O aumento da demanda global por alimentos e produtos agrícolas tem gerado diversas discussões a respeito do aumento do uso de agrotóxicos e suas consequências ao meio ambiente.

*Defensivos agrícolas naturais: uso e perspectivas* apresenta diversas pesquisas e formas de utilizar mecanismos naturais de controle, eficazes para um resultado prático no controle de pragas e que contribui para uma agricultura mais consciente e sustentável.



MINISTÉRIO DA  
AGRICULTURA, PECUÁRIA  
E ABASTECIMENTO

