

# **CONTROLE BIOLÓGICO E MANEJO DE PRAGAS NA AGRICULTURA SUSTENTÁVEL**

**Vanda Helena Paes Bueno/ Juracy Caldeira Lins Jr.**

**Alcides Moino Junior**

**Luis Cláudio Paterno da Silveira**

**(Departamento de Entomologia/UFLA)**

## SUMÁRIO

1. Introdução	1
2. Inimigos Naturais	1
3. Controle Biológico com Entomófagos	3
3.1. Regulação de Populações	3
4. Tipos de Controle Biológico	4
4.1. Controle Biológico Natural	5
4.2. Controle Biológico Aplicado	5
5. Programas de Controle Biológico com Entomófagos	7
5.1. Cultura da Cana-de-Açúcar	8
5.2. Cultura da Soja	12
5.3. Cultura do Tomate	14
5.4. Cultura do Trigo	16
5.5. Fruteiras	17
5.6. Macieira	18
5.7. Florestas	19
5.8. Cultivos Protegidos	19
6. Controle microbiano de pragas: definição, conceitos e microrganismos entomopatogênicos	23
7. Epizootiologia e utilização de entomopatógenos no Manejo Integrado de Pragas	26
8. Tecnologias de controle microbiano de pragas com fungos, bactérias, vírus e nematóides entomopatogênicos	32
8.1. Principais programas de controle microbiano no Brasil	32
9. Produção de microrganismos entomopatogênicos	35
10. Controle de qualidade de produtos microbianos	42
11. Bibliografia recomendada	46

## **1. Introdução**

O controle biológico é um fenômeno natural, a regulação do número de plantas e animais pelos inimigos naturais, os agentes bióticos de mortalidade. Envolve o mecanismo da densidade recíproca, o qual atua de tal forma que sempre uma população é regulada por outra população, ou seja, um ser vivo é sempre explorado por outro ser vivo e com efeitos na regulamentação do crescimento populacional, e assim mantendo o equilíbrio da natureza. O controle biológico foi definido por DeBach (1968) como “a ação de parasitóides, predadores e patógenos na manutenção da densidade de outro organismo a um nível mais baixo do que aquele que normalmente ocorreria nas suas ausências”.

O controle biológico pode ser interpretado de três formas: (1) como um campo de estudos em diferentes áreas, tais como ecologia de populações, biosistemática, comportamento, fisiologia e genética; (2) como um fenômeno natural: quase todas as espécies têm inimigos naturais que regulam suas populações e (3) como uma estratégia de controle de pragas através da utilização de parasitóides, predadores e patógenos.

O controle biológico é assim, um componente da estratégia do manejo integrado de pragas, com ênfase, aqui, aos insetos e ácaros. De acordo com Parra et.al. (2002), atualmente o controle biológico assume importância cada vez maior em programas de manejo integrado de pragas (MIP), principalmente em um momento que se discute muito a produção integrada rumo a uma agricultura sustentável. Nesse caso, o controle biológico constitui ao lado da taxonomia, do nível de controle e da amostragem, um dos pilares de sustentação de qualquer programa de MIP. Além disso, é importante como medida de controle para manutenção de pragas abaixo do nível de dano econômico, junto a outros métodos, como o cultural, físico, o de resistência de plantas a insetos e os comportamentais (feromônios), que podem até ser harmoniosamente integrados com métodos químicos (produtos seletivos) ou mesmo com plantas transgênicas.

## **2. Inimigos Naturais**

Os organismos vivos que atuam como agentes de controle biológico constituem o grupo dos inimigos naturais, o qual é formado pelos parasitóides, predadores e patógenos.

Os dois primeiros são denominados agentes entomófagos e, o último, entomopatogênico. Esses organismos, entomopatogênicos, serão abordados dentro do Controle Microbiano.

Quanto aos entomófagos, embora exista um grande número de organismos que se alimentam de insetos, como pássaros, lagartos, sapos, tamanduá, a ênfase aqui é para insetos que se alimentam de insetos, onde se apóiam, atualmente, os programas de controle biológico de insetos-praga.

Do ponto de vista econômico, um inimigo natural efetivo é aquele que é capaz de regular a densidade populacional de uma praga e mantê-la em níveis abaixo daquele de dano econômico estabelecido para um determinado cultivo (Figura 1). No geral, os inimigos naturais, em particular, os parasitóides e predadores mais efetivos, devem apresentar as seguintes características: adaptabilidade às mudanças das condições físicas do meio ambiente, um certo grau de especificidade a um determinado hospedeiro/presa, alta capacidade de crescimento populacional com relação a seu hospedeiro/presa, alta capacidade de busca, particularmente em baixas densidades do hospedeiro/presa, sincronização sazonal com o hospedeiro/presa e capacidade de sobreviver nos períodos de ausência do hospedeiro/presa, e capaz de modificar sua ação em função de sua própria densidade e do hospedeiro/presa, ou seja, mostrar densidade recíproca.

Parasitóides – dentro da entomologia considera-se o termo parasitóide, ao inseto que parasita um hospedeiro, completa o seu ciclo em um único hospedeiro e usualmente mata esse hospedeiro. Suas larvas exibem o habito parasítico, e os adultos são de vida livre, se alimentando de néctar, substancias açucaradas etc. Os parasitóides estão, em sua maioria, dentro da Ordem Hymenoptera, e poucos na Ordem Diptera (Família Tachinidae). Atacam e se desenvolvem em todos os estágios dos insetos, ou seja, ovo, larva (ninfa), pupa e adulto. Alguns exemplos de parasitóides, *Trichogramma pretiosum*, *Cotesia flavipes*, *Telenomus podisi*, *Trissolcus basal*, *Lysiphlebus testaceipes*, *Aphidius colemani*.

Existem os parasitóides primários, aqueles que se desenvolvem em hospedeiros não parasitóides, ou seja, seus hospedeiros são fitófagos, saprófagos, polenófagos etc. E os hiperparasitóides, que são parasitóides que se desenvolvem em outro parasitóide (o parasitóide do parasitóide). Também existem os endoparasitóides, ou seja, o parasitóide que se desenvolve dentro do corpo do hospedeiro, podendo ser solitário, quando uma única

larva completa seu desenvolvimento em determinado hospedeiro, ou gregário, quando várias larvas se desenvolvem até a maturidade em um único hospedeiro. E o ectoparasitóide, espécie que se desenvolve fora do corpo do hospedeiro (a larva se alimenta inserindo as peças bucais através do tegumento do hospedeiro), podendo ser também solitário e gregário.

Como categorias do parasitismo, pode-se citar o multiparasitismo, situação na qual mais de uma espécie de parasitóide ocorre dentro ou sobre um único hospedeiro, e o *superparasitismo*, fenômeno no qual vários indivíduos de uma mesma espécie de parasitóide podem se desenvolver em um hospedeiro. No caso de um menor número de hospedeiros, em relação ao número de parasitóides, o superparasitismo pode atuar como um mecanismo de regulação da população do parasitóide em função daquela do hospedeiro. E no multiparasitismo, pode ocorrer a competição, levando a morte de um dos parasitóides.

Predadores – são indivíduos de vida livre, usualmente maior do que as presas requerem um grande número de presas para completar o seu ciclo de vida, e podem apresentar o comportamento predatório, tanto no estágio ninfal (larval) como adulto. Quanto ao hábito alimentar podem ser mastigadores ou sugadores. Estão presentes em várias ordens de insetos, sendo as mais importantes: Coleoptera (Famílias Coccinellidae, Carabidae), Diptera (Famílias Syrphidae, Asilidae), Hemiptera (Famílias Anthocoridae, Pentatomidae, Reduviidae), Neuroptera (Família Chrysopidae), Hymenoptera (Família Vespidae), Dermaptera (Famílias Forficulidae, Labiduridae). Alguns exemplos de insetos predadores, *Orius insidiosus*, *Chrysoperla externa*, *Labidura riparia*, *Cycloneda sanguinea*, *Porasilus barbiellinii*, *Brachygastera lecheguana*, *Podisus nigrispinus*.

### **3. Controle Biológico com Entomófagos**

#### **3.1. Regulação de Populações**

Ainda que se tenha utilizado erroneamente como sinônimos, os termos controle e regulação se referem a diferentes processos que produzem diferentes efeitos sobre as populações.

Controle se refere a fatores de supressão, que destroem uma porcentagem fixa da população independentemente da densidade da população. Por exemplo, o efeito da chuva eliminaria (hipoteticamente) 80% da população de um pulgão sem importar se a densidade do pulgão é de 10 mil ou um milhão/ha; similarmente aconteceria com o controle de uma praga com inseticida. Assim uma população pode ser reduzida rápida e substancialmente por meio desse controle, mas, os efeitos do controle são geralmente curtos e seguidos de uma rápida ressurgência da praga.

Em contraste, regulação inclui o efeito dos fatores do meio ambiente cuja ação é determinada pela densidade da população, ou seja, se destrói uma porcentagem mais alta quando se incrementa a população e vice-versa (Figura 1). Por exemplo, ao aumentar a densidade de uma praga, se incrementa também a disponibilidade de recursos alimentares e ou locais de reprodução do fator regulador (parasitóide ou predador), o que permite incrementar também sua própria população. Esse aumento do inimigo natural traz como consequência um aumento na porcentagem de mortalidade da praga como resultado do parasitismo ou predação, até chegar a um certo nível máximo (os inimigos naturais nunca eliminam 100% de seus hospedeiros/presas); inversamente, ao decrescer a população da praga, a densidade do inimigo natural também diminui como resultado dos efeitos de escassez de alimento, dispersão e outros fatores, o qual resulta em um decréscimo na porcentagem de mortalidade da praga pelo parasitóide/predador. Este processo garante a não extinção do hospedeiro/presa, o qual evita também a extinção do parasitóide/predador. Assim, o fator regulador está perfeitamente inserido dentro do contexto do controle biológico de pragas.

#### **4. Tipos de Controle Biológico**

Do ponto de vista agrícola, podemos enfocar o controle biológico de duas formas: o controle biológico natural e o controle biológico aplicado.

#### 4.1. Controle Biológico Natural

O conceito “balanço da natureza” se define como a tendência natural das populações de plantas e animais de não crescer até o infinito, nem decrescer até a extinção, como resultado de processos reguladores (como os inimigos naturais) em ambientes não perturbados (ecossistemas naturais). Assim, o **controle biológico natural** envolve as ações combinadas (fatores bióticos e abióticos) de todo o meio ambiente na manutenção das densidades características da população, ou seja, o equilíbrio natural. Muitos organismos-praga potenciais podem ser mantidos em densidades muito abaixo dos níveis de danos por inimigos naturais que ocorrem naturalmente no campo. Em ecossistemas naturais, uma enorme quantidade de espécies de inimigos naturais mantém insetos fitófagos em baixas densidades populacionais. Mesmo em agroecossistemas, muitas pragas potenciais são mantidas em níveis que não causam danos, por meio da ação dos inimigos naturais que ocorrem naturalmente. DeBach e Rosen (1991) estimaram que 90% de todas as pragas agrícolas são mantidas sob controle natural.

#### 4.2. Controle Biológico Aplicado

O **controle biológico aplicado** envolve a interferência do homem e funciona no sentido de incrementar as interações antagônicas que ocorrem entre os seres vivos na natureza. Esse tipo de controle pode ser clássico, conservação e aumentativo.

O controle biológico clássico envolve a importação dos agentes de controle de um país para outro ou de uma região para outra, de modo a estabelecer um equilíbrio biológico a uma dada praga. Em muitos casos, o complexo de inimigos naturais associados com um inseto-praga pode ser inadequado. Isto é especialmente evidente quando um inseto-praga é acidentalmente introduzido em uma nova área geográfica sem seus inimigos naturais, o que envolveria então, a procura e a introdução do inimigo natural apropriado para a praga ou espécies proximamente relacionadas. Uma série de estudos, no entanto, devem ser realizados previamente com esses agentes de controle para que haja certeza no que diz respeito à segurança e efetividade, antes da implantação do programa. O primeiro grande

sucesso de controle biológico, que se tornou um exemplo clássico na literatura foi a introdução na Califórnia da joaninha australiana *Rodolia cardinalis* (Coleoptera: Coccinellidae) trazida da Austrália em 1888, para o controle do pulgão-branco-dos citros, *Icerya purchasi* (Hemiptera: Margarodidae), o qual foi completado, de maneira espetacular, dois anos após a liberação da joaninha. Esse caso de controle biológico clássico é considerado um marco no controle biológico como um método de controle de pragas.

Conservação envolve medidas que preservem os inimigos naturais em um agroecossistema, ou seja, manipular o seu ambiente de forma favorável, como evitar práticas culturais inadequadas, preservar fontes de alimentação ou habitat, uso de produtos fitossanitários seletivos. A conservação pode resultar tanto em maior diversidade de espécies benéficas quanto em uma grande população de cada espécie, conduzindo a um melhor controle de pragas. A conservação de inimigos naturais é provavelmente a mais disponível e importante prática de controle biológico para os produtores de vegetais (hortaliças). Os inimigos naturais ocorrem em todos os sistemas de produção de vegetais, sendo adaptados ao ambiente local e as pragas-alvo. A preservação e manutenção dos inimigos naturais são imprescindíveis para estabelecer o equilíbrio biológico e reduzir os custos de produção.

O controle biológico aumentativo, onde os inimigos naturais são periodicamente introduzidos e liberados, após a criação massal em laboratório; é comercialmente aplicado em grandes áreas em vários sistemas de cultivo ao redor do mundo. Segundo van Lenteren (2000), internacionalmente, mais de 125 espécies de inimigos naturais estão disponíveis comercialmente para o controle biológico aumentativo. Esta forma de controle é aplicada em campo aberto em cultivos que são atacados somente por poucas pragas, e também, é particularmente popular em sistemas de cultivos protegidos, onde todo o espectro de pragas pode ser manejado por um conjunto de inimigos naturais.

Três formas de liberações aumentativas de inimigos naturais podem ser distinguidas:

Liberação inundativa – os inimigos naturais são criados massalmente em laboratório, sendo periodicamente liberados em grandes números para obter um efeito de controle imediato de pragas por uma ou duas gerações, isto é, esses organismos são usados como “inseticidas biológicos”. É utilizado em culturas anuais, ou em cultivos onde o nível



de dano é muito baixo exigindo um rápido controle da praga nos estágios iniciais da infestação, ou em cultivos onde ocorre somente uma geração da praga.

Liberação inoculativa – os inimigos naturais são liberados em número limitado, ou seja, somente um pequeno número é liberado, com objetivo de supressão em longo prazo da população da praga. É aplicado em culturas perenes ou semiperenes e florestas. É típica do controle biológico clássico.

Liberação inoculativa sazonal, onde os inimigos naturais são liberados em casas de vegetação, com cultivos de curta duração, no período de ocorrência da praga. Um relativamente, grande número de inimigos naturais é liberado tanto para obter um controle imediato como para permitir o crescimento da população do agente de controle durante o ciclo do cultivo. Segundo van Lenteren (2000), este tipo de liberação lembra a liberação inoculativa ou controle biológico clássico, entretanto, tem como objetivo o efeito de controle sobre várias gerações. Tem sido desenvolvido na Europa durante as últimas três décadas e é aplicado, comercialmente, com grande sucesso para pragas em cultivos em casas de vegetação.

## **5. Programas de Controle Biológico com Entomófagos**

Como definido anteriormente, nos ecossistemas naturais, as populações de artrópodos entomófagos representam o fator ecológico que mais frequentemente regulam as populações de insetos herbívoros. Mas, quando este mecanismo de controle natural não regula uma determinada população, pode-se induzir a ação de entomófagos por meio do emprego do controle biológico aplicado.

Van Lenteren & Bueno (2003), mencionam que 25% da área mundial com uso de controle biológico aumentativo encontra-se na América Latina. Inicialmente o controle biológico aumentativo foi usado para manejo de pragas que tinham se tornado resistente aos produtos fitossanitários. Atualmente, é aplicado por razões de eficácia e custos, os quais são comparáveis com ou mais baixos do que o controle químico convencional. A popularidade do controle biológico aumentativo, segundo esses autores, pode ser explicada por um número de importantes benefícios quando comparado com o controle químico: não há efeitos fitotóxicos em plantas jovens, não ocorre aborto prematuro de flores e frutos, liberação de inimigos naturais leva menos tempo e é mais prazerosa do que aplicação de

produtos fitossanitários, várias pragas-chave podem ser controladas somente com inimigos naturais, não existe período de carência após a liberação de inimigos naturais e isto permite continua colheita sem perigo para a saúde do homem, além de não deixar resíduos tóxicos nas plantas e meio ambiente. Mais de 100 espécies de inimigos naturais são hoje disponíveis comercialmente para controle biológico aumentativo.

Um programa de controle biológico deve ser bem planejado, e várias etapas devem compor este programa, de acordo com van Lenteren (2000) e Parra et.al. (2002):

1. Conhecimento taxonômico da praga-alvo, sua região de origem.
2. Informações coletadas, através de pesquisa na literatura, sobre a biologia, comportamento da praga, e outras que auxiliem no processo de controle da mesma.
3. Inventário dos inimigos naturais.
4. Seleção dos inimigos naturais mais promissores. Estudos mais detalhados sobre biologia, comportamento etc.
5. Criação massal do inimigo natural selecionado. Técnicas para criação massal.
- Controle de qualidade
6. Liberação do inimigo natural
7. Avaliação final da efetividade biológica e econômica

Além dessas etapas do programa de controle biológico, é fundamental que haja certa lógica para que ele atinja o usuário, e segundo Parra (1993), as etapas, para tal lógica, seriam as seguintes: (a) seleção da (s) cultura (s) e do (s) inimigo (s) natural (is); (b) criação de pequeno porte do hospedeiro/presa para desenvolvimento de pesquisa básica; (c) desenvolvimento de um sistema de criação massal; (d) avaliação do custo/benefício e (e) transferência da tecnologia ao usuário (Figura 2).

No Brasil, vários programas de controle biológico com entomófagos têm sido conduzidos e aplicados.

### **5.1. Cultura da Cana-de-Açúcar**

Envolve o maior programa de controle biológico do mundo, pela extensão da área canavieira, são cerca de 2,5 milhões de hectares.

Praga - A broca-da-cana de açúcar, *Diatraea saccharalis*, é um lepidóptero, que na sua fase larval causa danos diretos e indiretos a cana-de-açúcar. Os danos diretos decorrem

da alimentação e caracterizam-se por perda de peso (pela abertura de galerias no entrenó), morte da gema apical da planta (“coração morto”), encurtamento do entrenó etc. Os danos indiretos são causados por microorganismos que invadem o entrenó através do orifício aberto pela lagarta. Esses microorganismos, preferencialmente fungos dos gêneros *Fusarium* e *Colletotricum*, causam a podridão vermelha do colmo, o que ocasiona a inversão da sacarose, provocando perdas bastante significativas.

Seu controle é bastante difícil devido à lagarta penetrar no interior do colmo. Assim a busca por métodos de controle eficientes, levou os pesquisadores a optar pelo seu controle biológico, o qual envolveu inicialmente, técnicos do IAA/Planalsucar (órgão atualmente extinto) e da Copersucar.

Inimigos naturais - Entre os principais inimigos naturais da broca encontram-se os parasitóides, moscas nativas *Paratheresia claripaplis* e *Lydella minense* (Díptera: Tachinidae), e a vespinha introduzida *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae). O controle biológico da broca iniciou-se com as moscas, mas depois se optou pelo uso do parasitóide *C. flavipes*.

Controle biológico - Em abril de 1974, *C. flavipes* proveniente de Trinidad foi introduzido em Alagoas, Brasil, iniciando-se o Programa Nacional de Controle Biológico de *Diatraea* spp. (broca da cana-de-açúcar) no país, desenvolvido pelo IAA/Planalsucar (Mendonça Filho et al., 1977), sendo distribuído posteriormente em Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, Sergipe, Bahia e Rio de Janeiro para controlar *D. saccharalis* e *D. flavipennis*, e em São Paulo e Amapá para controlar *D. saccharalis*.

Em 1975, de acordo com Botelho & Macedo (2002), iniciaram-se as pesquisas com *C. flavipes* no estado de São Paulo, a partir de material procedente do nordeste do Brasil. Até 1978 o aperfeiçoamento na tecnologia tornou a produção de *C. flavipes* em laboratório mais simples (produção do hospedeiro (broca) em dieta artificial), e a melhoria de sua performance no campo deu-se com a introdução de novas linhagens originárias de regiões mais frias e úmidas da Índia e do Paquistão, realizadas em 1978 (Macedo, 1978, 2000).

A quantidade de *C. flavipes* produzida e as necessidades de liberação são variáveis e precisam ser dimensionadas ao longo do ano para que as áreas prioritárias sejam atendidas.

Assim, há necessidade do acompanhamento sistemático da evolução da praga, da fenologia da planta e da época do ano.

Antes e após a liberação de *C. flavipes* é necessário o monitoramento sistemático da população da praga, a partir do momento em que começam a aparecer os primeiros entrenós visíveis na cana. Também após a liberação (10 a 15 dias após a liberação) o acompanhamento permite avaliar o desempenho do parasitóide no controle da broca. Isto pode ser feito empregando-se um dos dois métodos:

- . Hora/homem de coleta: amostrador caminha casualmente pelo canavial e coleta formas biológicas da praga e do inimigo natural (lagartas e pupas da praga, pupas do parasitóide), anotando-se o tempo de trabalho, o que envolve normalmente o período de uma hora.

- . Plantas amostradas: as observações são feitas em pontos amostrais 5 metros lineares, repetidas quatro vezes por hectare, onde todas as canas são contadas e examinadas e as formas biológicas da praga e do inimigo natural coletado.

Nesse caso, estima-se posteriormente a população da praga, multiplicando-se o número aproximado de cana existentes em 1 hectare pelo número de lagartas encontradas por cana.

Os levantamentos têm que ser dirigidos às variedades mais suscetíveis à praga, cultivadas em lavouras de cana de primeiro corte, tanto de 18 como de 12 meses, às áreas que recebem irrigação ou fertilização e aos viveiros de mudas. Nas situações em que o acompanhamento da praga indicar que a população de lagartas está no estágio adequado de ser parasitada, isto é, lagartas de 3º instar em diante (cerca de 1.5 cm de comprimento), já dentro dos colmos, com coletas médias superiores a 10 lagartas/hora/homem ou com população média estimada igual ou superior a 2.500 lagartas/ha, é preciso fazer o controle.

Para cada hectare de cana-de-açúcar são necessários 6 mil *C. flavipes* adultos, com custo aproximado de R\$15,00/ha.

Para avaliar o desempenho do parasitóide no campo, faz-se a coleta de material biológico seguindo a mesma metodologia descrita anteriormente. Depois da amostragem da área e com os dados tabulados, avalia-se o desempenho do parasitóide e, a partir dos resultados, decide-se pela conveniência ou não de se repetir a liberação. Esta se repete

quando o parasitismo é baixo (menos de 20%) e a população de lagartas, alta, segundo os parâmetros mencionados anteriormente.

Os resultados desses vários anos demonstram que o controle biológico de *D. saccharalis*, por meio de liberações sistemáticas de *C. flavipes*, ou seja, inundativas, foi e continua sendo um sucesso com real contribuição na redução da intensidade de infestação da praga, a qual era inicialmente de 10%, e sendo reduzido para 2%, um nível considerado ótimo, sem causar prejuízos.

O índice de infestação da broca-da cana, segundo Gallo et.al. (2002) é obtido coletando-se em cada talhão 100 colmos de cana, ao acaso, e contando-se o número de internódios broqueados, e o número total de internódios. Para o calculo do índice de infestação, usa-se a fórmula:

$$\textbf{I = 100 x (número de internódios borqueados)} \\ \textbf{(número total de internódios)}$$

Esse índice tem que ser sempre menor ou igual a 3%.

Relatos da Copersucar revelam, também que em 1991, 17 laboratórios de usinas cooperadas haviam liberado 943 milhões de adultos de *C. flavipes*, representando 76,8% do contingente de parasitóides liberados, e que a porcentagem de infestação da praga, em canaviais de 26 usinas cooperadas, tinha sido reduzida de uma média de 9% em 1980 para 3,17% em 1991 (Copersucar, 1992).

Essa diminuição na intensidade de infestação da broca foi verificada em um período em que a área de cana-de-açúcar no estado de São Paulo praticamente dobrou (hoje são mais de 2,5 milhões de hectares) e o perfil das variedades plantadas foi alterado, o qual é composto, atualmente, por canas mais ricas em açúcar, mais produtivas e mais susceptíveis a broca (Botelho e Macedo, 2002). Isto demonstra que o parasitóide *C. flavipes* exerceu e continua exercendo o seu papel de agente de controle biológico da broca, e que esse programa de controle biológico da broca em cana-de-açúcar foi e continua sendo um sucesso.

Vários laboratórios, atualmente, produzem e comercializam a vespinha *C. flavipes* no Brasil.

## 5.2. Cultura da Soja

Pragas - A cultura da soja abriga um número elevado de espécies de insetos, sendo que alguns causam sérios prejuízos á cultura e são considerados como pragas principais. Entre eles, destacam-se o percevejo verde grande *Nezara viridula*, o percevejo verde pequeno *Piezodorus guildinii* e o percevejo marrom *Euchistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae).

Esses insetos apresentam 5 estádios ninfais, e tanto as ninfas como os adultos sugam a seiva da planta e dos grãos. Aparecem a partir da floração, causando os maiores danos entre os estádios de desenvolvimento das vagens e final de enchimento dos grãos. Seus ataques podem causar considerável redução no rendimento e na qualidade da semente, e são agentes transmissores de doenças fungicas, como a “mancha fermento”, e pode retardar a maturação das plantas, causando o fenômeno da retenção foliar, “soja louca”, o qual dificulta a colheita.

Inimigos naturais - Os insetos pragas da soja estão sujeitos ao ataque de um grande número de inimigos naturais que se encarregam de eliminar parte de sua população, exercendo, portanto um controle natural sobre os mesmos. Alguns desses agentes são tão eficazes que, sob certas condições, mantém populações de insetos-praga abaixo do nível de dano econômico durante toda a safra, dispensando assim, a necessidade de controle químico.

Para os percevejos, o parasitismo é exercido principalmente pelo díptero *Eutrichopodopsis nitens* (Diptera; Tachinidae) que ataca os adultos (deposita ovos sobre o corpo dos pecevejos, e as larvas após a eclosão penetram no corpo dos mesmos), e por várias espécies de vespinhas que parasitam os ovos dos percevejos, sendo *Trissolcus basalis* e *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae) as mais importantes.

Esta vespinha é um microhimenóptero, de cor brilhante, de 1mm de comprimento. Os adultos têm vida livre e depositam seus ovos no interior dos percevejos matando o embrião. O desenvolvimento do parasitóide é perceptível externamente pelas mudanças na coloração dos ovos do hospedeiro. Ovos de *N. viridula* e *E. heros* quando parasitados mudam da cor amarela para cinza, três quatro dias após o ataque (fase de larva); após tornam-se castanhos (fase de pupa) e pretos quando próximos da emergência dos adultos.

Após completar o desenvolvimento, os adultos de *T. basalis* emergem por um orifício circular no topo do ovo (Correa-Ferreira & Panizzi, 1999). Ao se comparar o ciclo dos percevejos (40 dias) com o ciclo da vespinha (10 dias) ocorrem quatro gerações da vespinha para uma geração do percevejo, o que favorece o crescimento da sua população. As fêmeas apresentam uma fecundidade média de 250 ovos, depositados, principalmente, na primeira semana de vida.

Controle biológico - Considerando que *T. basalis* desenvolve-se de ovo a adulto em ovos do hospedeiro, a manutenção de colônias de percevejos como fonte contínua de fornecimento de ovos, viabilizando multiplicações de *T. basalis* em grande porte e suas liberações em campo em programas de controle biológico, tem fundamental importância.

A vespinha *T. basalis* ocorre naturalmente nas lavouras de soja, entretanto, o uso inadequado de inseticidas prejudica a sua eficiência. Para preservar, aumentar e antecipar a sua ocorrência recomenda-se que o parasitóide seja liberado nas folhagens das plantas de soja, nas primeiras semeaduras, com a soja no final do florescimento, quando os percevejos começam a invadir a cultura e iniciam a oviposição. Assim, o efeito do parasitóide sobre a população de percevejos é antecipado, mantendo-a abaixo do nível de dano econômico durante o período crítico. Devido ao ciclo da vespinha ser curto, em torno de 10 dias, a liberação nas culturas semeadas primeiramente ou semeadas com cultivares precoce permitirá a multiplicação mais rápida dos parasitóides os quais irão à busca de novos hospedeiros.

Recomenda-se liberar 5000 vespinhas/ha em diferentes pontos da cultura nos períodos de menor insolação ou, ovos parasitados colados em cartelas de papelão (três cartelas/ha), presas nas plantas um ou dois dias antes da emergência dos parasitóides adultos. As cartelas com as massas de ovos parasitadas são protegidas por uma tela de nylon, evitando-se que os ovos sejam predados antes da total emergência dos parasitóides, e amarradas na porção mediana das plantas de soja.

O comportamento de colonização dos campos de soja pelos parasitóides de ovos segue a distribuição dos hospedeiros na cultura. Concentram-se, inicialmente, nas bordas da cultura, devido às maiores populações de ovos de percevejos nessas áreas, dispersando-se, posteriormente, para o interior do campo (Corrêa-Ferreira, 2002).

Após a liberação dos parasitóides deve-se acompanhar periodicamente a população de percevejos através da amostragem com o pano de batida (a qual é válida para lagartas e percevejos), preferencialmente de cor branca, preso em duas varas, com um metro de comprimento, o qual deve ser estendido entre duas fileiras de soja. As plantas da área compreendida pelo pano devem ser sacudidas vigorosamente sobre ele, havendo, assim, a queda das pragas sobre o pano, as quais deverão ser contadas.

Este procedimento deve ser repetido em vários pontos da cultura, considerando como resultado final a média dos vários pontos amostrados. Recomenda-se vistoriar a cultura pelo menos uma vez por semana, iniciando as amostragens no princípio do ataque das pragas, intensificando o processo ao aproximar-se do nível de ação. Para os percevejos, esse nível é de 4 percevejos grandes em média/batida de pano (soja consumo), ou 2 percevejos grandes em média/batida de pano (soja semente). São considerados percevejos grandes, aqueles com mais de 0.5 cm de comprimento.

O programa de controle biológico dos percevejos da soja por meio da utilização de *T. basalis* conta com a multiplicação desse agente no próprio campo, e por isso é fundamental que seja liberado quando a população de percevejos ainda é baixa (menor que os níveis de ação), respeitando o período indicado para liberação.

O controle biológico dos percevejos da soja foi incorporado ao manejo integrado das pragas da soja, estando atualmente atuando em uma área de 18.020 hectares de soja, com o envolvimento de 343 produtores, em diferentes etapas de implantação, além de produtores isolados, destacando-se aqueles com áreas de soja orgânica. O programa conta com cinco laboratórios de criação e multiplicação do parasitóide *T. basalis* para liberação e atendimento as microbacias, além do laboratório da Embrapa Soja (Correa-Ferreira, 2002).

### **5.3. Cultura do Tomate**

O tomate (*Lycopersicum esculentum*) é uma solanácea cultivada em todas as regiões do Brasil, e no contexto mundial, o país situa-se, atualmente, como o nono produtor dessa solanácea. A produção brasileira de tomate, caracterizada pelo mercado como tomate industrial (cultivo rasteiro) e de consumo in natura (cultivo estaqueado), é de aproximadamente 2,6 milhões de toneladas, distribuída em 55,3% no Sudeste, 19,3% no Nordeste, 13,0% no Centro-Oeste, 12,5% no Sul e 0,1% no Norte.



Pragas - Dentre as pragas do tomateiro destacam-se a traça-do-tomateiro *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) e a moca-branca *Bemisia tabaci*, biótipo B (*Bemisia argentifolii*) (Hemiptera: Aleyrodidae). E entre seus principais inimigos naturais, estão os parasitóides de ovos do gênero *Trichogramma* (para *T. absoluta*) e a vespinha *Encarsia formosa* (para a mosca branca).

A traça-do-tomateiro é um microlepidóptero (10 mm de envergadura e 6mm de comprimento), coloração cinza-prateada, asas franjadas. A lagarta é inicialmente branca, passando depois a verde com uma suave mancha avermelhada no dorso. Esta praga ocorre durante todo o ciclo do tomateiro, atacando com severidade os brotos terminais, as gemas e as flores. As lagartas fazem galerias transparentes nas folhas, destruindo todo o mesófilo foliar, além de broquearem o caule na inserção dos ramos e os frutos (Haji, 1982).

Inimigos naturais e Controle Biológico - Espécies de parasitóides do gênero *Trichogramma*, entre elas, *T. pretiosum* vem sendo utilizada para o controle da traça-do-tomateiro, *T. absoluta*. Iniciou-se em 1990, pela Embrapa Semi-Árido, em Petrolina, Juazeiro e regiões adjacentes. Esse parasitóide foi importado da Colômbia, e produzido no Brasil, em ovos da traça dos cereais *Sitotoga cerealella*, colados em cartelas de papelão. As liberações de *T. pretiosum* para o controle biológico de *T. absoluta* devem ser realizadas, de preferência, duas vezes por semana, utilizando-se em cada liberação 75 polegadas quadradas de *T. pretiosum* por hectare (150 pl<sup>2</sup>/ha/semana). Dependendo da população da praga, pode-se aumentar a quantidade do parasitóide a ser liberada. Uma polegada quadrada (6,45 cm<sup>2</sup>) contém cerca de 3.000 ovos parasitados por *T. pretiosum*. Considerando-se um ciclo de três meses para a cultura do tomate (após o transplante), utilizam-se no total 1800 polegadas quadradas, ou aproximadamente 5.4 milhões de parasitóides por hectare (Haji et.al., 2002).

Para a mosca-branca, no cultivo do tomate, o controle biológico ainda não é realizado no Brasil, pois o parasitóide *E. formosa* é atualmente comercializado somente na Europa, Estados Unidos e Canadá, para uso em cultivos dessa hortaliça em sistema protegido (Bueno, 2001).

#### 5.4. Cultura do Trigo

Pragas - Os pulgões que atacam a cultura do trigo são as pragas mais importantes ocasionando danos diretos, pela sucção da seiva, e indiretos, pela transmissão de fitopatógenos, especialmente o vírus amarelo da cevada. As espécies mais comuns são *Metopolophium dirhodum* (Walker), *Schizaphis graminum* (Rondani), *Sitobion avenae*, *Rhopalosiphum padi* (L.) e *Rhopalosiphum rufiabdominale* (Sasaki).

Inimigos naturais - De acordo com Hagen e van den Bosch (1968), entre os inimigos naturais dos pulgões destacam-se microhimenópteros parasitóides primários, das famílias Aphidiidae e Aphelinidae, insetos predadores das famílias Coccinellidae, Syrphidae, Cecidomyiidae, Chrysopidae e Anthocoridae.

No entanto, os parasitóides de pulgões da Família Aphidiidae parecem ser os mais efetivos para serem usados em programas de controle biológico de pulgões, e muitas espécies tem sido investigadas como candidatas ao controle biológico de pulgões-praga. Entre as mais promissoras estão, *Aphidius colemani*, *Lysiphlebus testaceipes*, *Praon volucre*, sendo as duas primeiras já comercializadas. Segundo Mackauer e Way (1976), as espécies com maior potencial apresentam todos ou a maioria dos requerimentos essenciais para um efetivo inimigo natural, como alta capacidade reprodutiva, curto tempo de geração, boa capacidade de dispersão e ciclo de vida bem sincronizado com aquele de seus afídeos hospedeiros.

Controle Biológico - O programa de controle biológico do trigo no Brasil iniciou-se em 1978, com introdução, criação massal e liberação de inimigos naturais, caracterizando o controle biológico clássico, envolvendo a FAO, Embrapa-Trigo, e com atividades até 1992, com produção e distribuição de parasitóides. Foram realizados também outros estudos abrangendo biologia, dinâmica populacional, danos e seletividade de inseticidas aos inimigos naturais dos pulgões do trigo, visando desenvolver tecnologias de manejo dessas pragas que revertissem o quadro de desequilíbrio existente na cultura do trigo. Esse manejo enfatizou o controle biológico, por meio da introdução de novos inimigos naturais e de medidas complementares de preservação destes e das espécies já existentes (Salvadori e Salles, 2002).

## 5.5. Fruteiras

Pragas - As moscas-das-frutas (Díptera: Tephritidae) atacam mais de 400 espécies de frutas, e estão entre as principais pragas que afetam a fruticultura em todo o mundo, não só pelos danos diretos causados á produção, como pelas exigências quarentenárias impostas pelos países importadores de fruta *in natura*.

Dentre as espécies mais importantes, destacam-se a mosca-do-mediterrâneo *Ceratitis capitata* e várias espécies de *Anastrepha* (*A. fraterculus*, *A. obliqua*).

A mosca-do-mediterraneo é a mais importante, acha-se difundida por todo o território nacional, atacando pêssego, laranja, pêra, goiaba e muitos outros hospedeiros. Mede em torno de 4 a 5 mm de comprimento, e apresenta coloração predominantemente amarela, com tórax é preto na face superior, com desenhos simétricos brancos. Os adultos de *Anastrepha* medem cerca de 6.5 mm de comprimento, com um colorido predominantemente amarelo e com mancha amarela em forma de S que vai da base á extremidade da asa.

Inimigos naturais e Controle Biológico - Dentre os inimigos naturais das moscas-das-frutas destaca-se o parasitóide *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). Esse parasitóide oviposita no último instar larval das moscas-das-frutas e completa seu desenvolvimento no pupário do hospedeiro.

O parasitóide *D. longicaudata* foi introduzido no Brasil através da “Embrapa – Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas, BA” em 1994, com o objetivo de avaliar o potencial de utilização desse agente em diferentes ecossistemas do Brasil visando a implantação de um programa de controle biológico das moscas-das-frutas neotropicais. E, em termos práticos, o controle biológico de moscas-das-frutas em programas de diversos países, como, por exemplo, nos Estados Unidos (Havai), baseia-se no método inundativo, ou seja, os parasitóides são produzidos e liberados em escala massal (Carvalho e Nascimento, 2002). Segundo Malavasi (1996), é no México que se encontra o projeto mais avançado; no laboratório do Programa Moscamed, em Tapachula, são criados meio milhão de parasitóides/semana.

No Brasil, a partir de 1995, o Cena/USP passou a multiplicar massalmente, liberar e distribuir o parasitóide *D. longicaudata*. A estimativa de produção, de janeiro de 1995 a outubro de 2001, foi de 195 milhões de pupas de *C. capitata*, das quais 150 milhões de *D.*

*longicaudata*, que foram utilizadas em pesquisas próprias e distribuídas a empresas e órgãos interessados, principalmente do Estado de São Paulo. Foram feitos também envios de grande volume para a Guiana Francesa e Amapá, visando o controle da mosca-da-carambola. A capacidade de produção da biofábrica piloto é estimada em 50 milhões a 60 milhões de larvas ou pupas de *C. capitata* por mês, e desse total, 90% poderá ser destinado a produção de parasitóides (Walder, 2002).

A fim de garantir e ampliar a chance de sucesso no estabelecimento de *D. longicaudata* no Brasil, enviaram-se remessas do parasitóide exótico para laboratórios interessados na avaliação desse organismo, nos estados da Bahia, Pernambuco, Minas Gerais, São Paulo, Rio Grande do Sul e Amazonas. Todos os projetos implementados nas diferentes regiões do país seguiram a mesma metodologia, ou seja, foram realizadas monitoramentos de larvas de mosca-das-frutas (tempo = 0) em diferentes fruteiras antes das liberações de *D. longicaudata* no campo.

Atualmente o projeto de controle biológico das moscas-das-frutas está se espalhando pelo Brasil, baseando-se nos benefícios das liberações já alcançados em outras partes do mundo, e já existe a implantação de uma biofábrica, em Juazeiro, estado da Bahia destinado a produção comercial de parasitóides, visando suprir a demanda e contribuir para a consolidação da fruticultura tropical.

## **5.6. Macieira**

Dentre as principais pragas da macieira, encontra-se o ácaro vermelho *Panonychus ulmi*. Quatro empresas (Agrícola Fraiburgo S.A., Fisher Fraiburgo Agrícola Ltda., Pomifrai Fruticultura S.A. e Renar maçãs S. A. ), produtoras de maçãs em Fraiburgo, Santa Catarina, construíram unidades de criação do ácaro predador *Neoseiulus californicus* com a finalidade de implantar o controle biológico inundativo de *P. ulmi*, atualmente em um total de 6.600 hectares (Monteiro, 2002). Segundo este autor, criação de ácaros predadores para uso do controle biológico de ácaro vermelho pode ser realizada com sucesso em pomares nas regiões produtoras de maçã do Sul do Brasil. Produtores e cooperativas poderão obter rendimentos significativos com a economia de acaricidas utilizando *N. californicus*. Estima-se que a economia produzida com o controle biológico de ácaros, quando comparado com o controle convencional, seja de cerca de 85 dólares por hectare.

## 5.7. Florestas

Lagartas desfolhadoras são importantes pragas em diversos sistemas agroflorestais no Brasil, e os trabalhos desenvolvidos nos últimos 10 anos no país, vêm apontando o uso de percevejos predadores (Hemiptera: Pentatomidae: Asopinae) para o controle biológico dessas lagartas. As companhias reflorestadoras CAF Florestal Ltda., Champion Celulose, Mannesmann Florestal Ltda., Pains Florestal S.A. e Reflorestadora do Alto Jequitinhonha (Refloralje) estão produzindo, estudando e utilizando percevejos predadores (*Podisus nigrispinus*, *Supputius cincticeps*, *Brontocoris tabidus*) para o controle biológico de *Thyrintina arnobia* (Geometridae), *Psorocampa denticulata* (Notodontidae), *Euspsedossoma aberrans* (Arctiidae), *Sarsina violascens* (Lymantridae), e de outros lepidópteros desfolhadores de eucalipto (Zanuncio et.al., 2002).

## 5.8. Cultivos Protegidos

Muitos fatores evoluíram e contribuíram para o desenvolvimento da agricultura moderna, porém um deles parecia aos agricultores de controle impossível: dominar a adversidade climática. A sazonalidade climática permitia o aproveitamento de apenas alguns períodos do ano para o desenvolvimento de cultivos, fato que deu origem aos conhecidos calendários agrícolas. A geada, o vento frio, o granizo, a insolação e a chuva demasiada restringiam o aproveitamento da terra, deixando-a ociosa por longos períodos do ano, limitando a sua capacidade de produção e privando os agricultores da obtenção de melhores lucros (Bueno, 2001). Diante desta situação, os agricultores começaram a enfrentar o desafio de controlar o ambiente das plantas, e no final do século XIX, a produção comercial em casas de vegetação tornou-se estabelecida.

Casas de vegetação são sistemas únicos, com características próprias e peculiares. Várias características ecológicas fazem esses sistemas serem completamente diferentes de outros ecossistemas natural ou manejado. Cria-se um ambiente específico que não somente determina a natureza da infestação de uma praga, como também molda o papel dos agentes de controle biológico.

Embora sejam ambientes que podem ser controlados e ofereçam condições de melhoria para o crescimento e desenvolvimento de uma grande variedade de plantas, os mesmos podem também favorecer o aparecimento de pragas e doenças. Segundo Gullino e

Wardlaw (1999), o aumento da complexidade com pragas e doenças e os altos padrões cosméticos para os produtos vegetais (hortícolas) e ornamentais têm levado os produtores a aplicações preventivas intensivas e rotineiras de produtos fitossanitários, o que resulta no aparecimento, em poucos anos, de pragas e patógenos resistentes aos produtos mais freqüentemente usados, o que por sua vez aumenta os custos de controle.

Assim, o controle biológico através do uso de parasitóides, predadores e organismos entomopatogênicos, é atualmente uma realidade bastante desejável em sistemas de cultivos protegidos, uma vez que muitos casos de sucesso têm ocorrido em países que já utilizam esse método de controle, perfeitamente inserido nos princípios que regem o manejo integrado de pragas (MIP) (Tabela 1). Agentes entomófagos e entomopatogênicos vêm sendo usados comercialmente em muitos países da Europa, no Canadá e Estados Unidos para controlar importantes pragas em um amplo espectro de cultivos nos sistemas protegidos.

Nas últimas décadas seu uso vem aumentando consideravelmente uma vez que o controle biológico de pragas é um método sustentável, econômico e ambientalmente mais atrativo do que o controle químico. Os programas de controle biológico são adaptados por especialistas para um determinado cultivo, seja ornamental ou vegetal, observando-se, por exemplo, qual espécie de inimigo natural usar; o tempo, quantidade e freqüência de liberação. Também verificar quanto ao melhor sistema de liberação, como distribuir eficientemente o inimigo natural, assim como observar quanto à dispersão do agente de controle, e preços competitivos dos inimigos naturais comparados ao uso de produtos fitossanitários.

O controle biológico em casas de vegetação pode envolver a conservação, o controle natural e o controle aumentativo. De acordo com van Lenteren (2000), o manejo adequado dos arredores das casas de vegetação pode estimular ou restaurar o controle natural, e promover a migração de insetos benéficos para o interior dessas estruturas. Muitos parasitóides de moscas minadoras e de pulgões, como também predadores de tripses, migram para as estruturas protegidas, proporcionando o controle dessas pragas, desde que encontrem um ambiente equilibrado, e na ausência de produtos químicos.

No caso da liberação de agentes entomófagos, o controle biológico em casas de vegetação é aplicado por meio do método inoculativo sazonal, no qual os parasitóides e

predadores exóticos ou nativos são criados massalmente e periodicamente liberados em cultivos de curta duração, permitindo tanto um efeito imediato contra a praga como um crescimento da população do inimigo natural para um controle tardio durante a mesma estação. Em alguns casos, usa-se a liberação inundativa para obter uma redução imediata da população da praga. Segundo van Lenteren (2000), estima-se que a área total mundial sob formas sazonais inoculativas e inundativas de controle biológico seja de cerca de 32 milhões de hectares, incluindo condições de campo e de casas de vegetação.

Pragas em casas de vegetação são atualmente manejadas através do controle biológico em cerca de 14.000 dos 30.0000 hectares sob cultivos protegidos no mundo, comparados com os 200 hectares sob controle biológico nos anos 70 (van Lenteren, 1995). Acima de 80% do controle biológico aplicado em casas de vegetação são para cultivos de pepino, tomate e pimentão (Ravensberg, 1992), e todos os cultivos hortícolas juntos somam cerca de 90% dos inimigos naturais comercializados.

O grande número de inimigos naturais hoje disponíveis, com várias espécies para cada praga, como para a mosca minadora, mosca branca, tripses, afídeos e ácaros, tem tornado os programas de controle biológico em casas de vegetação estáveis e confiáveis. Um fator indicador do sucesso dessa forma de controle é a drástica redução no uso de inseticidas: em hortícolas essa redução é da ordem de 80 a 95% (Bolckmans, 1999).

Várias empresas estão envolvidas com a produção de inimigos naturais (Tabela 2), e também podem ser visualizados nesta tabela, as principais pragas e seus respectivos inimigos naturais envolvidos com cultivos em sistemas protegidos.

Os principais inimigos naturais usados e vendidos comercialmente e que podem estar presentes nos cultivos de ornamentais e vegetais em sistemas protegidos são:

1. Parasitóides: *Aphidius colemani*, *Lysiphlebus testaceipes*, *Praon sp.* – são pequenas vespinhas, parasitóides de pulgões. Ataca os pulgões, introduzindo, através de seu ovipositor, um ovo no interior do corpo do pulgão. Desse ovo sai uma larva, a qual se alimenta dos tecidos internos do pulgão, matando-o. O pulgão parasitado apresenta um aspecto de “mumia”, normalmente de coloração palha.
2. Parasitóides: *Encarsia formosa*, *Eretmocerus eremicus* - são parasitóides de mosca-branca. Parasita os estágios ninfais da mosca-branca, onde a fêmea coloca um ovo. O

desenvolvimento do parasitóide ocorre na pupa do hospedeiro, a qual torna-se negra em sua coloração.

3. Predadores: *Orius* spp. (*O. insidiosus*, *O. thyestes*, *O. laevigatus*, *O. majusculus*) – são pequenos percevejos predadores, principalmente de tripes. Tanto suas ninfas como os adultos se alimentam de todos os estágios da presa, e são encontrados no mesmo habitat de suas presas. No caso das ornamentais, vivem particularmente nas flores.

4. Parasitóides: *Dacnusa sibirica*, *Diglyphus isaea* - são pequenas vespíngas, parasitóides de larvas da mosca-minadora. Fêmeas de *D. sibirica* colocam seus ovos no interior das larvas da mosca-minadora, o parasitóide se desenvolve dentro da pupa do hospedeiro. Fêmeas de *D. isaea* matam a larva da mosca-minadora na mina e coloca o ovo em cima da larva da mosca-minadora, dentro da mina.

5. Predador: *Phytoseiulus persimilis* – ácaro predador do ácaro rajado. Os ácaros fitófagos que foram predados apresentam coloração marrom para preta, e podem ser identificados como finos pontos negros sobre as folhas. Não confundir com ácaros vivos que são marrom-claros ou vermelho-escuros.

Outros inimigos naturais, como joaninhas, crisopídeos, e também fungos, bactérias e vírus entomopatogênicos podem ser encontrados associados as principais pragas em ornamentais e vegetais em sistemas protegidos.

No Brasil, as pesquisas com controle biológico nesses sistemas de cultivo são recentes. Envolvem atualmente, o uso dos percevejos predadores *Orius insidiosus* e *O. thyestes* para o controle de tripes, e dos parasitóides *Aphidius colemani*, *Lysiphlebus testaceipes* e *Praon volucre* para o controle de pulgões. Estão sendo realizados estudos da biologia, comportamento, interação intraguilda, influência dos fatores ecológicos como fotoperíodo e temperatura, e do hospedeiro/presa e métodos de criação massal. Também envolvendo a liberação desses agentes em cultivos comerciais, com ênfase as taxas de liberação e uso de unidades de criação aberta (“plantas banqueiras”)

A liberação inoculativa sazonal de *O. insidiosus* e *L. testaceipes* em plantio comercial de crisântemo de corte em casa de vegetação, de 600m<sup>2</sup>, para controle de tripes e pulgões, respectivamente, demonstrou que esses agentes foram efetivos como agentes de controle biológico, controlando a população da praga e mantendo-a abaixo do nível de dano econômico. O predador *O. insidiosus* foi liberado na taxa de 1,5 a 2,0 *Orius*/m<sup>2</sup> em 5



liberações/ciclo de cultivo do crisântemo, e o parasitóide *L. tetaceipes*, em duas liberações (Figura 3), a primeira de 0,15 fêmeas/m<sup>2</sup> e a segunda de 0,24 fêmeas/m<sup>2</sup> (Silveira et al. 2004, Rodrigues et al. 2005).

Assim, se aposta no futuro do controle biológico nesses sistemas de cultivos, porque (1) menor número de inseticidas disponíveis (resistência e registro); (2) política governamental para reduzir o uso de inseticidas; (3) consumidores demandam por produtos livres de resíduos; (4) consciência dos efeitos dos inseticidas sobre a biodiversidade; (4) muitos inimigos naturais esperam por sua descoberta e uso; (6) pode ser empregado por pequenos agricultores e na agricultura com alta tecnologia.

O controle biológico é ambientalmente seguro, de longo prazo e sustentável, e, portanto, a melhor opção de controle.

## **6. Controle microbiano de pragas: definição, conceitos e microrganismos entomopatogênicos**

Se considerarmos que cada espécie de inseto seja suscetível a pelo menos um microrganismo patogênico, como ocorre com todos os outros organismos vivos dos diferentes reinos, ou seja, que pelo menos um microrganismo seja capaz de causar algum tipo de doença a esse inseto, temos uma pequena noção da importância do estudo dessas doenças no contexto do controle de pragas, principalmente. Isso se dá pela estimativa de que existam cerca de 2.500.000 espécies de insetos sobre a Terra, sendo que, dessas, aproximadamente 1.000.000 de espécies já são conhecidas e identificadas. Desse montante, por volta de 10% podem ser consideradas pragas agrícolas, florestais ou urbanas.

A patologia de insetos é a ciência que estuda as doenças dos insetos, visando utilizá-las para o controle de pragas ou com o objetivo de evitá-las quando ocorrem em insetos úteis (abelhas, bicho-da-seda, agentes de controle biológico, etc). Por doença, podemos definir um processo dinâmico, no qual hospedeiro (inseto) e patógeno (microrganismo), em íntima relação com o meio, influenciam-se mutuamente, resultando modificações morfológicas e fisiológicas em ambos. Este é um conceito estrito, já que, numa maior abrangência podemos também considerar como doenças, as alterações em processos

físicos, bioquímicos e fisiológicos dos insetos, tais como abrasões, fraturas, deficiências nutricionais, entre outros.

O controle microbiano é um ramo do controle biológico que trata da utilização racional dos entomopatógenos, visando a manutenção das populações de pragas a níveis de dano não-econômicos, segundo os princípios do Manejo Integrado de Pragas (MIP). Podemos definir, para o controle microbiano, da mesma forma que para o controle biológico com a utilização de entomófagos, tipos de controle, como o natural e o aplicado, e estratégias de uso, como introdução inundativa e inoculativa, aumento ou incremento e conservação/proteção.

As principais vantagens do uso de microrganismos entomopatogênicos para o controle de pragas são a especificidade e a seletividade desses agentes de controle, bem como a facilidade de multiplicação, dispersão e produção em meios artificiais e a ausência de poluição ambiental e toxicidade ao homem e outros organismos não-alvo, entre outras. Dessa forma, percebe-se que o controle microbiano de insetos, como braço do controle biológico, é base de sustentação do equilíbrio natural das espécies de insetos potencialmente consideradas como pragas.

Os principais microrganismos relacionados ao controle microbiano de insetos são fungos, bactérias, vírus e nematóides entomopatogênicos, com vários casos estudados e exemplos de utilização comercial, além de outros microrganismos como protozoários, rickétsias, espiroplasmas e fitoplasmas, menos conhecidos e estudados, mas também com imenso potencial de investigação com relação à patogenia e utilização aplicada.

Os fungos são microrganismos unicelulares (leveduras) ou pluricelulares (maioria dos fungos), constituídos de células providas de parede originada por celulose e quitina, além de outros açúcares, que formam um conjunto denominado micélio. Essas estruturas vegetativas que constituem o micélio são denominadas hifas, sendo que, após a colonização de um determinado hospedeiro, surgem estruturas reprodutivas conhecidas como esporos ou conídios, originadas de reprodução sexuada ou assexuada, responsáveis pela disseminação do patógeno. Os fungos possuem grande variabilidade genética, largo espectro de hospedeiros e geralmente penetram nos insetos via tegumento. Os principais grupos/espécies de interesse são: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *M. flavoviride*, *Nomuraea rileyi*, *Verticillium lecanii*, *Hirsutella thompsonii*, *Aschersonia*

*aleyrodis*, *Paecilomyces* spp., *Cordyceps* spp., e os fungos da ordem Entomophthorales (*Zoophthora*, *Entomophthora*, *Entomophaga*, *Neozygites*).

As bactérias que infectam insetos podem ser esporulantes ou não-esporulantes, obrigatórias ou facultativas, e penetram no inseto por via oral. São estruturas unicelulares, geralmente em forma de bastonetes, sendo o grupo das bactérias esporulantes constituído de uma célula vegetativa que contém, em seu interior, um esporo de resistência, que garante boa estabilidade no ambiente, a despeito de condições ambientais desfavoráveis, e um corpo parasporal, ou cristal protéico, composto por proteínas tóxicas que exercem efeito sobre os insetos-alvo.

Essas bactérias têm sido amplamente pesquisadas, devido ao grande interesse gerado pela possibilidade de produção desses microrganismos por processos fermentativos, sendo o grupo de entomopatógenos com maior potencial comercial, refletido na grande quantidade de produtos comerciais disponíveis em todo o mundo, ao contrário do que ocorre com os outros grupos de microrganismos entomopatogênicos. Os principais grupos são: *Bacillus thuringiensis* (diversas variedades), como var. *kurstaki*, que ataca lagartas (Lepidoptera), var. *israelensis*, infectando larvas de Diptera (pernilongos e borrachudos) e var. *tenebrionis*, infectando Coleoptera; *Bacillus sphaericus*, também em larvas de Diptera, e *Bacillus larvae* e *B. alvei*, que causam doenças em abelhas; pode-se citar também *Serratia marcescens* e *S. entomophila*, que causam septicemias em diversos insetos, pertencentes ao grupo das bactérias não-esporulantes.

Vírus são macromoléculas (nucleoproteínas), que contém somente um tipo de ácido nucleico (DNA ou RNA), e são parasitos celulares obrigatórios que penetram nos insetos por via oral. Os vírus que causam doenças em insetos são bastante específicos, sendo, entre os principais grupos de entomopatógenos, dos mais seguros em relação a possíveis efeitos sobre o homem ou outros animais não-alvo. Os principais grupos são os vírus de poliedrose nuclear (VPN), citoplasmática (VPC) e de grandulose (VG), conhecidos como Baculovirus.

Os nematóides entomopatogênicos são vermes semelhantes àqueles que infectam plantas, e se relacionam com os insetos de três formas: forésia (transporte), parasitismo obrigatório ou parasitismo facultativo. De maneira geral, esses nematóides não possuem estiletes bucais, ao contrário do que ocorre nos nematóides fitopatogênicos, e alguns grupos têm uma associação muito íntima (simbiose ou mutualismo) com bactérias no processo de

estabelecimento da doença. Dessa forma, esses nematóides carregam em seu interior um pequeno inóculo de bactérias específicas, que são liberadas no interior do corpo do inseto após a penetração do nematóide, via aberturas naturais (boca, ânus). Essas bactérias então se multiplicam em todos os tecidos do inseto, matando-o por septicemia (infecção generalizada), ficando o nematóide imerso no material do qual passa a se alimentar. Os principais grupos de interesse para o controle microbiano são: Família Steinernematidae e Família Heterorhabditidae, os quais possuem uma estreita associação com bactérias (*Xenorhabdus*); Família Mermithidae, que são parasitos obrigatórios e Família Neotylenchidae, nematóides dotados de estiletes bucais, como os fitoparasíticos.

Alguns problemas relacionados à comercialização de produtos microbianos, que impedem atualmente um maior desenvolvimento dessa linha de trabalho, são a concorrência com produtos químicos, a falta de assistência técnica durante a comercialização e após a aplicação do produtos, a existência de formulações inadequadas e produtos de baixa qualidade no mercado, a exigência de condições específicas de armazenamento desses produtos, entre outros.

Apesar disso, já existe no mercado, principalmente internacional, um bom número de produtos microbianos à disposição do consumidor, e são ótimas as perspectivas de utilização desses produtos em um curto espaço de tempo em nossas condições, em decorrência do processo de conscientização da sociedade na direção do consumo de produtos agrícolas sanitária e ambientalmente seguros, os quais, inclusive, podem ser melhor remunerados em função das características citadas.

## **7. Epizootiologia e utilização de entomopatógenos no Manejo Integrado de Pragas**

Epizootiologia é o estudo dos fatores que favorecem ou não a ocorrência de doenças em insetos. Numa analogia a outra palavra bastante conhecida, mais aplicada à área de saúde humana, podemos considerar que epizootiologia seria o mesmo que epidemiologia, ou seja, o estudo das epidemias, principalmente dos fatores associados a essa ocorrência generalizada da doença.

Como já definido anteriormente, podemos definir as doenças num âmbito estrito (doenças microbianas ou infecciosas) ou numa esfera mais ampla, considerando também as

doenças não-infecciosas, ou de outras causas (físicas, químicas, fisiológicas, nutricionais). Mais uma vez, ficaremos restritos à primeira definição.

Dessa forma, os objetivos principais dos estudos epizootiológicos são: descobrir e estudar o ciclo de vida dos agentes entomopatogênicos, quantificar a sua ocorrência, num determinado local/época/hospedeiro e fornecer subsídios para estratégias de controle microbiano de pragas (Figura 4).

De maneira geral, independentemente do entomopatógeno estudado, podemos dizer que o desenvolvimento da doença se dá de acordo com uma distribuição conhecida como curva epizoótica (Figura 5). Essa curva é constituída de uma fase pré-epizoótica, caracterizada pela existência de focos primários da doença, oriundos de insetos mortos, estruturas do entomopatógeno existentes no solo, por exemplo, capazes de desencadear o processo. Em seguida, percebe-se uma fase de grande incremento na taxa de ocorrência da doença, chamada fase epizoótica propriamente dita, caracterizada pela rápida multiplicação e disseminação do microrganismo, com conseqüente aumento da mortalidade do inseto hospedeiro e do inóculo presente na área. Por fim, reconhecemos a fase denominada pós-epizoótica, na qual, em virtude principalmente das condições ambientais desfavoráveis, e da diminuição do número de hospedeiros suscetíveis, devido à alta mortalidade, percebe-se a diminuição da ocorrência da doença na população.

Com base no padrão de ocorrência observado, podemos também definir doença enzoótica (menos agressiva, que ocorre normalmente em taxas mais baixas) e doença epizoótica (caracterizada pela agressividade do entomopatógenos e altas taxas de mortalidade e disseminação). Essa definição é feita com base em conceitos e taxas derivados dos estudos epidemiológicos, como taxas de prevalência, incidência, mortalidade anual, mortalidade específica, mortalidade etária, número de casos fatais, porcentagem de infecção e transmissão. Por vezes, não é fácil, no caso de doenças em insetos, obter dados consistentes que permitam a determinação dessas taxas ou índices.

Em suma, a epizootiologia trata de estudar e conhecer os fatores bióticos, relativos ao hospedeiro (inseto) e ao patógeno (microrganismo), bem como os fatores abióticos ou ambientais (climáticos e não-climáticos), que são responsáveis por dar condições para o desenvolvimento do processo dinâmico ao qual nos referimos como doença.

Com relação aos fatores bióticos relacionados ao hospedeiro (inseto), visando estabelecer padrões relativos principalmente à ocorrência de pragas e à sua suscetibilidade às doenças, podemos citar alguns aspectos a serem abordados:

- a) Características ou estratégias reprodutivas da praga, com o reconhecimento e caracterização de populações de insetos estrategistas “r” ou “k”, quanto à utilização dos recursos bióticos e alimentares disponíveis;
- b) Características da população visada quanto à suscetibilidade individual, em contraposição à suscetibilidade da população como um todo, importante no aspecto da transmissão e disseminação da doença;
- c) Densidade da população, já que epizootias estão diretamente ligadas à existência de altas densidades populacionais da praga e ao fato de patógenos de disseminação horizontal (contato entre indivíduos) serem também dependentes da densidade populacional. Também, nesse caso, interessa muito a estratégia de introdução do patógeno que será utilizada, como por exemplo, a introdução inundativa, com o patógeno sendo utilizado na forma de inseticida microbiano, em altas concentrações por área, relativamente independente da densidade populacional da praga;
- d) Biologia e hábitos dos insetos: é importante o conhecimento dos hábitos alimentares e do comportamento dos insetos, visando uma ação mais efetiva do controle microbiano. Como exemplo, temos insetos mastigadores de vida livre, cuja deposição do produto microbiano sobre o substrato de alimentação (ex: folhas) é de extrema importância; conhecer o estágio suscetível da praga (formas jovens, adultos); avaliar o comportamento de insetos de solo (solo como reservatório natural de patógenos, condições de UR alta, temperaturas amenas, o papel de microrganismos antagonistas), podem facilitar o desenvolvimento de iscas atrativas, que promovem um alto potencial de inóculo com proteção do entomopatógeno a condições adversas; e também, mais especificamente, o caso dos insetos sociais, com características de agregação, trofalaxia (troca de alimento), “grooming” = comportamento de limpeza, que são estratégias utilizadas para evitar doenças, mas que podem, em alguns casos, contribuir com a disseminação do microrganismo;
- e) Migrações de insetos e mudanças nos hábitos: a ocorrência do geotropismo negativo, devido ao fenômeno chamado “behavioral fever” (= febre

- comportamental), muito comum em insetos doentes, utilizado como mecanismo de defesa, mas que contribui com a maior disseminação de certos fungos, por exemplo;
- f) Predisposição do hospedeiro: característica intrínseca à espécie, relativa à via de inoculação à qual o inseto é mais suscetível, bem como ao espectro de enzimas e pH no intestino, além da interação do tegumento com as condições climáticas, favorecendo a deposição de ceras, visando a economia de água, o que pode dificultar a penetração do entomopatógeno, além da fase/estágio em que se encontra o inseto, e da maior suscetibilidade na época das mudas de tegumento (Figura 6);
  - g) Presença de hospedeiros: fator relativo à necessidade de hospedeiros primários, secundários, alternativos e/ou intermediários para o completo desenvolvimento do ciclo da doença, como ocorre para alguns fungos patogênicos a pernilongos (*Coelomomyces*, *Amblyospora*);

Dentre os fatores bióticos relacionados aos entomopatógenos, pode-se destacar:

- a) Tipos de patógenos: primários, secundários, acidentais, ocasionais, facultativos, obrigatórios, gerando classificações quanto à sua agressividade (característica enzoótica/epizoótica), tais como patógeno rápido, lento, crônico, epizoóticos, entre outros;
- b) Infectividade (capacidade de penetração – habilidade natural), patogenicidade (capacidade de provocar doença – característica genética), virulência e agressividade (níveis de ocorrência de doenças – característica biológica alterável) que são características intrínsecas ao patógeno, inclusive em nível subespecífico (isolados, cepas, raças, etc.);
- c) Estratégia de reprodução do patógeno: geralmente patógenos epizoóticos são mais recomendados para controle de pragas anuais (em estratégias inundativas) e patógenos enzoóticos para pragas em cultivos perenes, semiperenes (incremento e introdução inoculativa), devido principalmente às diferenças na capacidade de disseminação;
- d) Disseminação e transmissão dos patógenos: há patógenos com mecanismos adaptativos bastante evidenciados, como os fungos Entomophthorales, com ejeção de conídios primários (não-infectivos), permitindo maior disseminação e ocorrência frequente de epizootias, e outros bastante infectivos, com alta virulência, alta

reprodução, mas sem epizootias naturais, como *Bacillus thuringiensis*, além da importância de se conhecer se o mecanismo de transmissão do microrganismo é vertical (de geração a geração do inseto) ou horizontal (somente entre indivíduos);

- e) Vias de inoculação dos patógenos: tais como via tegumento, transmissal oral, transmissão transovigênica ou transovariana, o que corrobora para aumento da capacidade de disseminação da doença;
- f) Capacidade de sobrevivência dos patógenos, evidenciada naqueles microrganismos com fases de resistência (esporos bacterianos, poliedros virais, clamidósporos em fungos Entomophthorales, escleródios, sinêmios), que são estruturas geralmente não-infectivas, mas que garantem persistência no ambiente e em condições adversas;
- g) Potencial de inóculo, definido como o número de propágulos viáveis sobre o hospedeiro, capaz de iniciar o processo de doença, que influencia diretamente a infectividade dos patógenos;
- h) Interações entre organismos, tais como sinergismo, antagonismo, coexistência, que são relações ecológicas que podem modificar completamente a eficiência de determinado microrganismo entomopatogênico no ambiente;

Dentre os fatores abióticos (climáticos e não-climáticos) que necessitamos conhecer para os estudos epizootiológicos, podemos citar:

- a) Temperatura: essencial na estabilidade no armazenamento, na aplicação e ocorrência natural dos microrganismos entomopatogênicos, sendo que os insetos, fora da faixa de 15 a 38, sofrem estresse, favorecendo os patógenos, além do processo de desnaturação de proteínas e decomposição do ácido nucleico, que pode alterar a eficiência de vírus, por exemplo (Figura 7);
- b) Umidade: expressa em quantidade de chuva, umidade do solo e umidade do ar (relativa, absoluta, nível de saturação), limitante para processos reprodutivos de microrganismos;
- c) Radiação e fotoperíodo, principalmente com relação à faixa de raios UV, que degradam partículas virais e propágulos de fungos, com maior efeito;
- d) Solo: com destaque às condições limitantes de pH para o estabelecimento de patógenos, lembrando que este ambiente é um depósito de grande número de



patógenos e também de microrganismos antagônicos, como *Trichoderma*, *Penicillium* e actinomicetos, entre outros;

- e) Produtos fitossanitários, que ainda são a base do controle de pragas em sistemas desequilibrados, e mesmo nos quais se procura aplicar os princípios sustentáveis do MIP; estes produtos podem causar efeitos letais, fungistáticos, bacteriostáticos ou podem, por outro lado, melhorar o crescimento e reprodução dos patógenos, quando portadores de características benéficas de seletividade, base da estratégia de conservação.

De maneira geral, o que se procura através dos estudos epizootiológicos, além do conhecimento dos fatores que afetam a ocorrência de doenças, é a sua implicação no processo de decisão da melhor estratégia para uso do microrganismo entomopatogênico como agente de controle, dentro de um programa de MIP, incluindo, em alguns casos, a possibilidade de previsão da ocorrência das doenças em função do conjunto de fatores bióticos e abióticos relativos ao hospedeiro, patógeno e ambiente, o que seria de extrema importância para a manutenção de populações de pragas abaixo do nível de dano econômico sem a necessidade de introduções artificiais, seja de agentes biológicos ou de outros métodos de controle mais agressivos.

Assim, como a filosofia do MIP visa a utilização conjunta de várias táticas de controle, com aproveitamento do potencial de controle natural, a doença, seja pela sua ocorrência natural ou pela introdução artificial é parte desse contexto. Como já dito anteriormente, assim como definido para o controle biológico por entomófagos, há diversas estratégias, como introdução inoculativa, introdução inundativa, aumento ou incremento, conservação ou proteção, e inclusive a utilização de patógenos modificados e plantas transgênicas, que podem ser consideradas com relação ao controle microbiano.

Quando consideramos a ocorrência natural de doenças, os patógenos devem ser tidos como elementos básicos do manejo integrado, podendo inclusive, em algumas situações, ser o elemento principal. Para tal, são necessários estudos preliminares e estabelecimento de padrões de ocorrência de doenças (padrões epizootiológicos), baseados principalmente no monitoramento da doença na população hospedeira, que, juntando-se à comparação com ocorrências anteriores, podem permitir previsões, baseadas, muitas vezes, em complexos modelos matemáticos desenvolvidos para tal fim.

De outra maneira, quando pensamos na utilização dos entomopatógenos como agentes introduzidos de controle biológicos, devemos pensar em estratégias como introduções inoculativas, aumento ou incremento (em ambientes perenes ou semi-perenes), introdução inundativa com inseticidas microbianos (para culturas anuais, principalmente).

Por fim, talvez a melhor forma/estratégia para se aproveitar o potencial de controle dos microrganismos entomopatogênicos seja a conservação/proteção dos entomopatógenos já existentes, de forma que os mesmos possam atuar como agentes reguladores das populações de pragas, sejam eles de ocorrência natural ou introduzida, sem que outras atividades ou intervenções no agroecossistema venham a prejudicar essa eficiência.

Assim, práticas como a utilização correta de produtos químicos, com a verificação da seletividade dos produtos aos microrganismos; a compatibilidade de entomopatógenos com outros agentes biológicos (predadores, parasitóides, por exemplo); a utilização de práticas agrícolas visando a melhoria da ação dos entomopatógenos (irrigação, plantio direto); a incorporação de patógenos em plantas (transformação genética) e o manejo da resistência de pragas aos entomopatógenos, que deve ser preocupação constante, são essenciais para a inclusão dos microrganismos patogênicos a insetos num sistema equilibrado, eficiente e sustentável.

## **8. Tecnologias de controle microbiano de pragas com fungos, bactérias, vírus e nematóides entomopatogênicos**

### **8.1. Principais programas de controle microbiano no Brasil**

Os principais programas de controle de pragas utilizando microrganismos entomopatogênicos no Brasil são:

- a) cigarrinhas da cana-de-açúcar e das pastagens, com o fungo *M. anisopliae*: este programa baseia-se no uso do fungo de forma inundativa, aplicado em área total, na quantidade de aproximadamente 1 kg do produto comercial por hectare. Deve-se ressaltar que os produtos comerciais à base de fungos entomopatogênicos no Brasil são, na sua maioria, formulados na forma de pó molhável, com cerca de 5% de fungo e 95% de inertes (arroz moído). O uso de

*M. anisopliae* tem tido um largo impulso nos últimos anos, principalmente no Estado de São Paulo, com a volta dos cultivos da cana crua (sem queimada para colheita), o que vem trazendo problemas com a cigarrinha da raiz da cana-de-açúcar, praga anteriormente controlada em consequência do uso do fogo. Assim, cerca de 10 novas empresas surgiram para atendimento da grande demanda recém-implantada.

- b) cupins de montículo e da cana-de-açúcar, com os fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae*: programa que vem sendo preconizado e desenvolvido após a retirada dos produtos fitossanitários organoclorados no Brasil, o que ocorreu em meados dos anos 80. Baseia-se na utilização de iscas atrativas de papelão corrugado, impregnadas com suspensões aquosas dos fungos isoladamente, ou em associação com produtos fitossanitários seletivos, como imidacloprid e fipronil, entre outros (introdução inoculativa). Essas iscas atraem operários dos cupins, que infectam-se e levam propágulos dos fungos aos outros indivíduos da colônia, já que o ninho é difuso e subterrâneo, além de se apoiar no comportamento de limpeza (“grooming”) e na trofalaxia dos cupins como eficientes meios de disseminação;
- c) broca (moleque) da bananeira, com o fungo *B. bassiana*: programa já desenvolvido há um bom tempo, com base na utilização de iscas de pseudocaule da bananeira, muito atrativas aos adultos de *Cosmopolites sordidus*. Nessas iscas, que podem ser do tipo telha ou queijo, de acordo com o formato, é pincelada uma pasta de fungo e arroz moído com água (pode ser a formulação comercial), com a qual o inseto adulto se infecta, disseminando o fungo para outros indivíduos, devido ao seu comportamento de agregação. Também é uma estratégia de introdução inoculativa;
- d) broca-do-cafeeiro, com o fungo *B. bassiana*: é um programa relativamente novo, embora já se saiba sobre a ocorrência natural desse fungo há muito tempo na cultura do cafeeiro. Atualmente, procura-se desenvolver uma metodologia mais racional de aplicação do fungo na cultura, evitando-se trabalhar com formulações líquidas, dando-se preferência à formulação pó seco, capaz de penetrar mais eficientemente no interior da cultura, além de estudos que visam o

controle da broca em reinfestações provenientes do terreiro de café e de frutos caídos ao solo, quando não há o chamado “repasse” na cultura;

- e) percevejo-de-renda da seringueira, com o fungo *Sporothrix insectorum*: bastante utilizado em grandes áreas de produção comercial da seringueira nos Estados de São Paulo, Mato Grosso e Rondônia, este fungo, muito específico para a praga em questão é comercializado em formulações líquidas (suspensões concentradas), ainda com produção restrita a alguns institutos de pesquisa e laboratórios próprios das empresas produtoras;
- f) lagartas (Lepidoptera), com a bactéria *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, sendo este o programa baseado em formulação comercial de maior sucesso, não só no Brasil, mas no mundo todo, em função do desenvolvimento de produtos de qualidade e apelo comercial. A bactéria é utilizada principalmente, no Brasil, em áreas de exploração florestal, em especial no cultivo do eucalipto, visando o controle de lagartas desfolhadoras. Também é registrado para uso em hortícolas e diversas culturas frutíferas;
- g) lagarta da soja, com *Baculovirus anticarsia* (VPN), sendo este o maior programa de controle biológico estabelecido no mundo, em área, com o uso de um entomopatógeno (hoje, cerca de 1,5 milhão de hectares de soja, no Brasil). É um programa desenvolvido pela Embrapa Soja (Londrina, PR), que já transferiu a tecnologia de produção do vírus para algumas pequenas empresas nacionais, as quais, sob a supervisão técnica e de controle de qualidade da Embrapa, comercializam as formulações existentes (na sua maioria, pós molháveis). É este um ótimo exemplo da evolução de um programa de controle microbiano, desde sua divulgação e implantação, com o apoio da extensão rural, até o desenvolvimento de formulações comerciais de qualidade, a partir de uma tecnologia simples que era conduzida pelo próprio agricultor;
- h) vespa da madeira, com o uso do nematóide *Deladenus siricidicola*: programa desenvolvido pela Embrapa Florestas (Colombo, PR), tendo como base um nematóide exótico, da família Neotylenchidae, que, além de se alimentar de um fungo, que serve também de alimento para a larva da vespa, que é praga de

*Pinus*, causa esterilização e castração parasitária nos adultos, os quais fazem a postura de ovos inférteis, com a consequente redução populacional da praga.

Vários outros estudos vêm sendo conduzidos em diversas instituições de pesquisa, visando o controle de importantes insetos-pragas e vetores de doenças de importância médica e veterinária, dentre os quais podemos destacar o controle de pragas em cultivos protegidos, principalmente de pulgões e tripses, com o uso de fungos e nematóides entomopatogênicos, associados à liberação de predadores e parasitóides, e o controle de pragas do cafeeiro, além da broca, com especial atenção para as cochonilhas e cigarras, o que vem contribuindo, sem dúvida, para uma maior inserção dos microrganismos entomopatogênicos no Manejo Integrado de Pragas de diversos agroecossistemas, buscando, cada vez mais, a manutenção de um ambiente produtivo seguro, equilibrado, saudável e sustentável.

## **9. Produção de microrganismos entomopatogênicos**

Apesar de ser uma área do conhecimento relativamente antiga, o controle microbiano tomou grande impulso principalmente após a proibição do uso dos inseticidas organoclorados, e também em decorrência do estabelecimento do Manejo Integrado de Pragas como prática racional no controle de insetos prejudiciais em sistemas agrícolas e florestais sustentáveis.

Os microrganismos entomopatogênicos precisam estar disponíveis em grandes quantidades para sua aplicação como bioinseticidas (estratégias de introdução), devido à necessidade de elevado potencial de inóculo para que se inicie o processo de doença numa determinada população de insetos. O que se nota, atualmente, é que não ocorre, na maioria dos casos, essa disponibilidade em quantidades e formulações suficientes e adequadas para o controle de importantes pragas agrícolas e florestais, bem como vetores de doenças de importância médico-veterinária.

A produção de microrganismos entomopatogênicos é uma fase muito importante no processo de desenvolvimento de um bioinseticida. Uma análise crítica permite a constatação de que as indústrias de produtos fitossanitários investem uma grande parcela de seus recursos no desenvolvimento de inseticidas químicos, contrastando com um ínfimo

direcionamento em pesquisa e desenvolvimento de produtos microbianos, muitas vezes relacionado somente à necessidade do “marketing” empresarial, visando estabelecer uma relação com preocupações “ecológicas” perante à sociedade. Isso se deve a vários fatores, entre eles a preocupação da indústria com problemas derivados do registro de patentes; o amplo mercado ainda existente no país para produtos químicos, resultante do pequeno nível de conscientização de produtores, consumidores etc. sobre a necessidade da utilização de métodos mais racionais para o controle de pragas; os custos para o desenvolvimento de um produto microbiano, os quais, ao contrário do que se possa pensar, são equiparáveis aos necessários para a obtenção de uma nova molécula química, se considerarmos o envolvimento de três sistemas biológicos: patógeno, hospedeiro e ambiente.

Desse baixo investimento que hoje predomina, resultam produtos microbianos de qualidade insatisfatória no que diz respeito aos aspectos de pureza, viabilidade e eficácia do agente de controle (patógeno). Os produtos à base de fungos e vírus, principalmente, são ainda produzidos por processos considerados artesanais, mesmo em escala comercial. Exceção a essa regra são os produtos à base de bactérias entomopatogênicas, com destaque para *Bacillus thuringiensis*, os quais são obtidos em processos fermentativos controlados, em grande escala, derivados de rotinas de produção em indústrias farmacêuticas e de alimentos, com vasta experiência no desenvolvimento de produtos oriundos de fermentação.

A despeito desse quadro negativo existem, principalmente no mercado internacional, muitos produtos microbianos já desenvolvidos e comercializados. Esses produtos atingem dois mercados diferenciados, sendo o primeiro voltado para o emprego do patógeno em estratégias de introdução inundativa, exigindo alta tecnologia para a produção de grandes quantidades de propágulos, e o segundo tendo como alvo pequenos produtores de hortaliças, jardins residenciais, parques etc., onde podem atuar empresas de menor porte, que utilizem processos menos dispendiosos de produção.

De forma resumida, pode-se salientar que os produtos à base de fungos entomopatogênicos são os mais problemáticos com relação à produção e desenvolvimento de bioinseticidas, devido à dificuldade na obtenção de produtos com estabilidade, pureza e concentração de propágulos que permitam a sua utilização eficiente em condições de campo. Esses problemas advêm do fato de esses microrganismos serem suscetíveis a

alterações genéticas durante o processo de produção, que diminuem sua infectividade, bem como à dificuldade de controle de contaminações por outros microrganismos e à quase inexistência de formulações que protejam o patógeno dos fatores ambientais de degradação, como temperatura, umidade e, principalmente, radiação solar.

Os vírus, apesar de serem menos dependentes de fatores bióticos que os fungos, são considerados patógenos de ação lenta, sendo essa uma grande desvantagem comercial. A especificidade hospedeira que apresentam, apesar de ser um ótimo indicativo no aspecto de segurança, é o principal fator limitante na produção, pois o fato de serem patógenos obrigatórios exige que sua produção seja feita sobre o hospedeiro original, o que prejudica o desenvolvimento de processos de produção mais eficientes (produção *in vitro*).

Como enfatizado anteriormente, os produtos microbianos à base de bactérias foram aqueles que, nos últimos anos, receberam os maiores investimentos de indústrias no aspecto de produção e desenvolvimento de produtos. Atualmente, cerca de 50 % dos produtos microbianos existentes no mundo são provenientes de bactérias entomopatogênicas

Com relação aos nematóides entomopatogênicos (Rhabditida, Steinernematidae e Heterorhabditidae), os atuais sistemas de produção são capazes de produzir em pequena, média e larga escala, mas os altos custos da maioria dos processos ainda constituem um fator limitante para o uso destes em programas de MIP. São duas as técnicas que se usam na produção de nematóides entomopatogênicos: produção *in vivo* e produção *in vitro*.

A produção *in vivo* é uma técnica simples, mas cujo custo de produção é elevado e não permite uma economia de escala, pois a duplicação da capacidade de produção requer a duplicação da área e do capital. Um dos principais insetos hospedeiros utilizados para produção *in vivo* da maioria das espécies dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* é *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). Este hospedeiro tem demonstrado boas características para a infecção, parasitismo e penetração dos nematóides sendo até hoje reconhecido como hospedeiro preferencial por sua alta produção. A produção *in vivo* de para propósitos comerciais em larvas de *G. mellonella* permite obter médias de produção de 30.000 a 50.000 nematóides por larva, chegando até 200.000 JIs/larva.

Dos métodos desenvolvidos para produção *in vitro* de nematóides, o método de Bedding mostrou ser o de maior sucesso, tendo sido com este método que se iniciou a exploração comercial dos nematóides com potencial para controle biológico. A produção

em meio sólido é feita usando pedaços de um suporte inorgânico, como esponja de poliuretano, embebidos num meio nutritivo constituído de tecidos animais e óleo ou banha como substrato, para a reprodução e desenvolvimento do complexo nematóide/bactéria e obtendo produções da ordem de  $10^9$  nematóides/L. É um método flexível, com custos de capital baixos e não necessita de mão de obra especializada sendo, por isso, atrativo para muitas empresas. Outro sistema de produção *in vitro* é em cultura monoxênica em meio líquido e em fermentadores do tipo tanque agitado de 10 L, com produções de  $9 \times 10^4$  nematóides/mL. Apesar dos aspectos positivos destes sistemas como por exemplo a segurança, o controle e a flexibilidade, os rendimentos continuam sendo insatisfatórios. Uma desvantagem adicional é ter que renovar a virulência das bactérias, multiplicando os nematóides novamente *in vivo*. Em nível mundial, nematóides produzidos por este método são vendidos como formulações comerciais. Entre as mais importantes têm-se as formulações comerciais No Flea e GrubStak com os nematóides *S. carpocapsae* e *H. bacteriophora* respectivamente, nos Estados Unidos e a formulação Nemasys na Inglaterra com o nematóide *S. feltiae*.

Formular um entomopatígeno é acrescentar a ele determinados compostos que melhorem o seu desempenho no campo, facilitem o manuseio e a aplicação, e, principalmente, permitam o armazenamento sob condições nas quais se minimize o custo, com perda mínima das qualidades do produto.

A formulação de um produto microbiano tem, em geral, o mesmo objetivo proposto para os inseticidas químicos, ou seja, liberar o ingrediente ativo em uma forma apropriada de uso, de fácil aplicação, com alta eficiência e baixo custo.

Sendo organismos vivos, os agentes de controle microbiano de pragas apresentam estruturas que devem ser preservadas durante o processo de produção, formulação e nas condições de armazenamento e ambiente após a aplicação no campo. Por apresentarem biologia e modo de ação distintos, fungos, vírus, bactérias e nematóides têm exigências específicas, que devem ser consideradas na produção e formulação.

Outros aspectos que devem ser observados quanto ao agente de controle microbiano são a sua segurança em relação aos organismos não-alvo (muito importantes para garantir a sustentabilidade do sistema) e as questões relativas ao registro de bioinseticidas. Formulações especiais, como iscas altamente atrativas para um tipo de inseto, podem ser



usadas para contornar possíveis problemas quanto à segurança do produto, e para evitar exposição de outros animais e humanos a patógenos que possam causar efeitos indesejáveis.

A produção de qualquer agente de controle biológico deve levar em conta a formulação final do produto. Isso porque a formulação, que deve ser encarada como a etapa final do desenvolvimento do produto microbiano, vai depender de vários aspectos da fase de cultivo dos patógenos, como por exemplo, o tipo de propágulo produzido, certos tratamentos dados ao microrganismo durante a produção, separação dos propágulos do meio de cultura, entre outros. Pequenas variações nos parâmetros da produção podem levar à obtenção de produtos finais com características de armazenamento e qualidade bem diferentes.

O sistema de produção também deve objetivar a minimização da manipulação necessária para a obtenção do produto final. Outras situações especiais podem determinar condições específicas para a produção de entomopatógenos. Assim, é importante determinar a formulação que é mais adequada ao uso ou estratégia que se pretende adotar antes da escolha do sistema de produção.

No caso do controle de larvas aquáticas de dípteros hematófagos (pernilongos, borrachudos), sabe-se que esses insetos são suscetíveis a uma série de patógenos, como *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, *B. sphaericus*, *M. anisopliae*, entre outros. As larvas de pernilongos, dependendo da espécie, vivem e se alimentam na superfície ou nas camadas mais profundas da água. Como exemplo, larvas de *Anopheles* vivem na superfície, enquanto as do gênero *Aedes* localizam-se mais ao fundo dos leitos de água. O estudo e o conhecimento desse comportamento dos insetos é de grande importância para o desenvolvimento de formulações visando o controle desses dípteros, permitindo a utilização de inertes que favoreçam o deslocamento do patógeno para o fundo, ou que facilitem a sua permanência por maior tempo na superfície da água.

Com relação a vírus entomopatogênicos, encontra-se no Brasil o maior programa de utilização de um inseticida biológico no mundo, que é o vírus de poliedrose nuclear da lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatilis* (AgMNPV). Esse programa iniciou-se no final dos anos 70, sendo conduzido no Centro Nacional de Pesquisa da Soja (CNPSo), da EMBRAPA, em Londrina/PR. Desde o início do programa, até 1985, o vírus era obtido por

maceração e filtração de lagartas infectadas, recolhidas pelo próprio produtor, com o auxílio de programas de treinamento e assistência técnica.

A partir da safra de 86/87, toda a produção realizada no CNPSO passou a ser processada numa formulação pó molhável, tendo como inerte a caolinita, e, em 1992, essa tecnologia foi repassada para a iniciativa privada, o que aumentou consideravelmente a utilização do vírus, e o oferecimento de um produto de melhor qualidade ao produtor, pois nem sempre o processo mais simples, de coleta e maceração de lagartas era feito de maneira correta, com o inconveniente da coleta de lagartas atacadas por outros entomopatógenos de ocorrência comum, como o fungo *Nomuraea rileyi*, ou mesmo parasitóides, bem como microrganismos saprofíticos que proliferam em infecções secundárias sobre as lagartas mortas, influenciando na depreciação da qualidade e pondo em risco a segurança do patógeno.

Esses exemplos demonstram a importância da escolha de uma formulação adequada à estratégia de controle de uma determinada praga. Mais que isso, exemplificam também a necessidade da adequação do processo de produção do patógeno, para que seja possível o encaixe do propágulo resultante à formulação em questão.

Entre os diversos sistemas de produção são reconhecidos três diferentes níveis, com base no volume e destino da produção, sendo: laboratorial ou experimental, artesanal e industrial. Métodos adequados a um nível de produção podem não ser adequados a outros níveis, devido ao custo de produção, utilização de mão-de-obra, produtividade potencial e outros fatores.

A produção laboratorial ou experimental visa a produção de pequenas quantidades de material destinadas a experimentos de laboratório e outros usos em pequena escala. Nesse nível, os microrganismos são geralmente produzidos sobre meio de cultura microbiológico em placas de Petri mantidas em incubadoras, ou em frascos Erlenmeyer (meios líquidos). Culturas sobre meio sólido em placas de Petri são adequadas à obtenção de conídios de fungos, por exemplo, e outros esporos, enquanto as culturas em meio líquido são utilizadas para a obtenção de micélio, blastósporos, células vegetativas bacterianas etc.

A produção artesanal tem por objetivo a produção de quantidades intermediárias de material para utilização em experimentos maiores, ou para comercialização e utilização em aplicações de campo. Esse nível de produção é caracterizado pelo alto uso de mão-de-obra,

e alguma maquinaria para automatização de algumas fases do processo produtivo. Normalmente, os meios de cultura são preparados com materiais prontamente disponíveis no mercado local e são utilizados equipamentos adaptados de outros usos.

A produção industrial procura a obtenção de grandes quantidades de material destinado à distribuição no mercado consumidor do produto. Esse nível de produção se caracteriza pela utilização de meios de cultura especialmente preparados para o sistema de produção e equipamento desenvolvido para os usos nas diversas fases da produção. Poucos microrganismos entomopatogênicos são produzidos nesse nível.

No Brasil ainda predomina a produção artesanal, muito embora boa parte da produção seja destinada a uso comercial de inseticidas microbianos. Em outros países, a produção de entomopatógenos a níveis industriais se dá em alguns casos isolados, mas, na maioria das vezes, produções artesanais (semi-industriais) ainda predominam.

Como salientado anteriormente, a aplicação de patógenos como bioinseticidas requer grandes quantidades do agente ativo. Conseqüentemente, sua produção deve ser relativamente fácil, com boas características de estocagem. A produção depende de o microrganismo entomopatogênico se desenvolver em meio artificial ou não. Se ele crescer em meio artificial (*in vitro*), poderá ser produzido em larga escala, utilizando-se as modernas técnicas de fermentação.

Por outro lado, se o patógeno se reproduzir apenas *in vivo*, faz-se necessário o hospedeiro vivo ou um organismo alternativo para sua multiplicação. Tal produção só se tornará viável com a utilização de criação de insetos livres de doenças, geralmente alimentados com dieta artificial.

Essas características, inerentes ao microrganismo, podem explicar, em alguns aspectos, o fato de que produtos à base de bactérias entomopatogênicas sejam produzidos em larga escala, com o uso de técnicas avançadas, ao contrário do que ocorre, atualmente, com produtos à base de vírus, os quais necessitam ainda da criação do hospedeiro, para que possa ser feita a inoculação do patógeno visando a produção, por se tratar de um organismo parasito obrigatório.

Por outro lado, apesar de existirem diversos meios de cultura para fungos entomopatogênicos, o investimento em produção a nível industrial é muito pequeno, tanto no Brasil quanto em países do exterior, sendo que a grande maioria dos produtos

microbianos à base de fungos entomopatogênicos pode ser considerada como produzida em escala artesanal (ou semi-industrial), com grande dispêndio de mão-de-obra. Esse fato pode ser explicado por outras dificuldades intrínsecas desses produtos, como baixa estabilidade, formulações inadequadas, baixa eficiência em campo devido a condições ambientais desfavoráveis, o que, em última análise, complica extremamente o estabelecimento de fungos entomopatogênicos como bons produtos microbianos comerciais, apesar de sua freqüente ocorrência natural, causando importantes epizootias em pragas de diversas culturas.

## **10. Controle de qualidade de produtos microbianos**

Em quaisquer níveis de produção, o controle de qualidade do material produzido deve ser encarado como etapa imprescindível para que ocorra o sucesso esperado. No caso do controle de qualidade de produtos microbianos comerciais, essa importância extrapola para outras esferas. Está em jogo a credibilidade do produto, a idoneidade do empresário que produz e comercializa o microrganismo, e, acima de tudo, o direito do consumidor de adquirir um produto que realmente seja eficiente para o que se propõe: controlar pragas agrícolas, florestais ou de importância médico-veterinária.

Normas preestabelecidas devem ser cumpridas, visando a manutenção da qualidade do produto, desde sua produção, formulação, embalagem, distribuição e armazenamento, para que o mesmo possa ser utilizado corretamente e expressar suas propriedades de eficácia e segurança.

Infelizmente, devido principalmente ao baixo investimento na pesquisa e produção de organismos entomopatogênicos que atualmente impera, os produtos existentes no mercado, com raríssimas exceções, não cumprem essas normas de qualidade. Poucas são as empresas que dispõem de laboratórios, equipamentos e pessoal especializado para executar um programa de controle de qualidade, ou as que firmam convênios isentos com instituições oficiais (Universidades, Institutos de Pesquisa) visando uma análise periódica das características físico-químicas e biológicas de seus produtos.

Para fins de registro e fiscalização de produtos microbianos comerciais, são exigidos certificados de análises expedidos por laboratórios credenciados para a

determinação do teor de princípio ativo (entomopatógeno) e quantidade de contaminantes na formulação, bem como da estabilidade do produto quando das preparações da calda, aplicação no campo e armazenamento. A análise de risco (segurança ao homem) e a avaliação do impacto ambiental dos entomopatógenos sobre organismos não-alvo também são informações indispensáveis para fins de registro de produtos microbianos, sendo que no Brasil uma legislação pertinente foi aprovada, na forma de Portaria Normativa do Poder Executivo Federal, em dezembro de 1997, após discussões com participação de especialistas na área.

Alguns exemplos demonstram a necessidade premente da aplicação dessas normas e leis, e de uma fiscalização efetiva, para que a utilização de produtos microbianos não seja ainda mais prejudicada, e consiga se estabelecer como alternativa segura e eficaz para o controle de pragas.

No Brasil foi registrada, há alguns anos, uma formulação do baculovírus da lagarta-da-soja com o nome comercial de Multigen, a qual era produzida sobre um hospedeiro alternativo, a broca-da-cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis*. Em bioensaios utilizando-se a lagarta-da-soja, concentrações de 10.000 poliedros virais/ml de dieta provocaram 92,5 % de mortalidade quando se utilizou o vírus multiplicado nesse hospedeiro, enquanto que a mortalidade foi igual ou menor a 12,5 % quando se utilizou o vírus multiplicado em hospedeiros alternativos, comprovando o fato de que as aplicações realizadas na cultura não controlavam as populações da praga, motivo pelo qual esse produto foi retirado do mercado em 1990.

Na Argentina, uma empresa lançou no mercado um bioinseticida à base de *Baculovirus anticarsia*, o qual não pode ser registrado, por não provocar uma mortalidade eficiente em aplicações realizadas a campo, porque a dose recomendada não possuía a quantidade apropriada do vírus. Esses fatos poderiam ser evitados se os produtos tivessem passado por um processo rigoroso de controle de qualidade.

O controle de qualidade permite a correção de problemas originados no processo de produção ou formulação. Quando os volumes de produção são elevados, como no caso da produção em nível industrial, a homogeneização do material pode ser deficiente e, para tanto, o monitoramento e controle de qualidade de cada lote produzido permitem comprovar e assegurar a eficiência do produto que chega ao mercado.

O controle de qualidade de um produto microbiano inicia-se pela seleção de variedades ou isolados patogênicos, virulentos e produtivos, utilizando-se a variabilidade natural existente entre os patógenos coletados sobre o hospedeiro original, sobre outros hospedeiros, ou em depósitos naturais, como o solo. Durante o processo de seleção, que deve envolver um número elevado de variedades ou isolados, determinam-se, entre outros parâmetros, a taxa de potência, a produtividade, a resistência a fatores climáticos, o padrão eletroforético e a viabilidade do patógeno, levando-se ainda em conta o seu possível efeito sobre os principais inimigos naturais e outros organismos não-alvo que ocorrem no ambiente em que vai ser aplicado.

Após a seleção, os microrganismos devem ser testados quanto ao comportamento durante o processo de produção. Esses testes têm grande importância na determinação do custo final do produto a ser utilizado, sendo que a escolha deve recair sobre aquele que seja altamente patogênico para as pragas-alvo, mas que apresente também qualidades adequadas para o sistema de produção.

Escolhido um isolado adequado, constante atenção deve ser dispensada à manutenção das suas características durante todas as fases de produção. O crescimento do patógeno durante as fases iniciais do processo produtivo, assim como a produtividade final do processo, devem ser periodicamente comparados com padrões preestabelecidos, para que problemas sejam detectados tão logo quanto possível.

Deve-se dar atenção especial ao inóculo, sendo a manutenção de colônias sadias do patógeno um passo importante no sucesso da produção. Deve-se eliminar o inóculo que não estiver de acordo com os padrões, evitando-se a perda de grande quantidade de material e tempo durante fases posteriores do sistema de produção. O inóculo deve ser testado em pequeno lote da linha de produção e assim certificado quanto às características desejadas. De acordo com os resultados nesse pequeno lote-teste, o inóculo deve ser utilizado ou não em larga escala.

Durante o processo de produção, a qualidade dos materiais utilizados, assim como parâmetros da produção (temperatura, qualidade do ar, sistemas de refrigeração e aquecimento) devem ser monitorados para que problemas sejam identificados antes que grande parte da produção seja afetada.

Após a obtenção do produto final, os diferentes lotes devem ser avaliados para que a qualidade do patógeno seja controlada. Testes de viabilidade e potência também devem ser realizados, visando o acompanhamento durante o período de armazenamento, para que a alta qualidade do produto recém-produzido não seja reduzida antes do mesmo ser utilizado no campo.

Como regra geral, e de acordo com as leis nacionais e internacionais, a quantidade de ingrediente ativo de qualquer defensivo deve ser expressa no rótulo da embalagem, como indicador de sua potência, a qual deve ser mantida constante em todas as remessas de produção. Por esse motivo, os produtos passam obrigatoriamente por processos de padronização. Em última análise, pode-se dizer que padronização vem a ser um sinônimo de controle de qualidade.

O caso dos produtos microbianos é considerado mais complexo que o dos químicos, pois, além da quantidade do patógeno incorporada na formulação, outras informações precisam ser incluídas no rótulo, com a finalidade de expressar com maior precisão a potência do produto, isto é, o seu poder inseticida, destacando-se entre essas informações, a virulência e a viabilidade do patógeno.

A importância de se estabelecer critérios para técnicas de padronização de produtos microbianos pode ser analisada sob dois pontos de vista. O primeiro atinge mais o fabricante, cujo interesse é de manter constante a potência do seu produto naquele nível indicado no rótulo, nas diferentes remessas de produção, ou seja, o controle de qualidade. O segundo se refere à dificuldade de comparação entre produtos industrializados em países diferentes e por processos diversos de fermentação e de formulação, e até a equivalência entre produtos à base de variedades ou isolados diferentes de um mesmo patógeno. Esses dois pontos de vista revelam a importância e a necessidade de se determinar técnicas e procedimentos que têm a função de avaliar, com maior eficiência, as atividades biológicas dos inseticidas microbianos.

Dessa forma, duas categorias de técnicas devem ser usadas para fins de controle de qualidade. A primeira utiliza métodos rápidos referentes ao patógeno, tais como contagem direta e quantificação total de unidades infectivas do patógeno e/ou das suas toxinas no produto formulado, determinação da quantidade viável do patógeno através de inoculação em meios de cultura e seroensaios para toxinas e vírus. A segunda categoria, mais

importante, refere-se à comparação entre bioensaios, utilizando-se um determinado inseto-teste como indicador do potencial inseticida do produto, e um bioensaio paralelo utilizando-se um padrão da mesma linhagem do patógeno, previamente estabelecido e reconhecido internacionalmente.

## 11. Bibliografia recomendada

ALVES, S.B. (ed.). 1998. **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. Fealq, Piracicaba. 1163 p.

BECKAGE, N.E., S.N. THOMPSON, & B.A. FEDERICI. 1993. **Parasites and pathogens of insects. vol. 2: pathogens**. Academic Press, New York, 294 p.

BOLCKMANS, K. J. F. 1999. Commercial aspects of biological pest control. p. 310-318. In: ALBAJES, R.; GULLINO, M. L.; VAN LENTEREN, J. C.; ELAD, Y. (eds.), **Integrated pest and disease management in greenhouse crops**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 599p.

BOTELHO, P. S. M.; MACEDO, N. 2002. *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis* p. 409- 425. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (eds.), **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. Editora Manole, São Paulo. 609p.

BUENO, V.H.P. 2000. **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. Editora UFLA, Lavras. 196p.

BUENO, V.H.P. 2001. Controle biológico em cultivos protegidos: importância e perspectivas. P. 309-332. In: SILVA, L.H.C.P.; CAMPOS, J.R.; NOSOJA, G.B.A. (eds.), **Manejo integrado de doenças e pragas em hortaliças**. Editora UFLA, Lavras. 354p.

CANTWELL, G.E. (ed.). 1974. **Insect diseases. vol. I, II**. Marcel Decker, Inc., New York. 300, 595 p.



CARVALHO, R. S.; NASCIMENTO, A. S. 2002. Criação e utilização de *Diachasmimorpha longicaudata* para controle biológico de moscas-das-frutas (Tephritidae).p. 165- 179. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (eds.), **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. Editora Manole, São Paulo. 609p.

COPERSUCAR. 1992. Entomology – Biological control of the borer, p. 27-28. In: Copersucar. Annual Report 1991/1992. Piracicaba, Centro de Tecnologia Copersucar – CTC. 1v.

COPPING, L.G. 1988. **The biopesticide manual**. British crop protection council publications, UK, 333p.

CORREA-FERREIRA, B. S. 2002. *Trissolcus basal* para o controle de percevejos da soja. p. 449- 476. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (eds.), **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. Editora Manole, São Paulo. 609p.

CORREA-FERREIRA, B. S.; PANIZZI, A. R. 1999. Percevejos da soja e seu manejo. Londrina, Embrapa-CNPSO, 45p. (Circular Técnica, 24).

DEBACH, P. ; ROSEN, D. 1991. **Biological control by natural enemies**. University Press, Cambridge. 440p.

DEBACH, P. 1968. **Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas**. Editora Continental, S.A., México. 927p.

ENTWISTLE, P.F., J.S. CORY, M.J. BAILEY & S. HIGGS. (eds.). 1993. ***Bacillus thuringiensis*, an environmental biopesticide: theory and practice**. John Wiley & Sons, New York. 311 p.

GALLO, D. et.al. 2002. **Entomologia agrícola**. FEALQ, Piracicaba. 920p.

GULLINO, M. L.; WARDLOW, R. L. 1999. Ornamentals. p. 217-234. In: ALBAJES, R.; GULLINO, M. L.; VAN LENTEREN, J. C.; ELAD, Y. (eds.), Integrated pest and disease management in greenhouse crops. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 599p.

HAGEN, K. S.; VAN DEN BOSCH, R. 1968. Impact of phatogens, parasites and predators on aphids. **Annual Review of Entomology** 13: 325-384.

HAJI, F. N. P. 1982. Nova praga do tomateiro no vale do Salitre, no estado da Bahia. Petrolina, Embrapa, CPATSA, 2p. (Comunicado Técnico, 10).

HAJI, F. N. P.; PREZOTI, L.; CARNEIRO, J. S.; ALENCAR, J.A. 2002. *Trichogramma pretiosum* para o controle de pragas do tomateiro industrial. p. 477- 494. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (eds.), **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. Editora Manole, São Paulo. 609p.

LACEY, L. A. (ed.). 1997. **Manual of techniques in insect pathology**. Academic Press, San Diego. 409 p.

LEITE, L. G., BATISTA FILHO, A., ALMEIDA, J.E.M. & ALVES, S.B. 2003. **Produção de fungos entomopatogênicos**. A.S. Pinto, Ribeirão Preto, 92 p.

MACEDO, N. 1978. New strain of *Apanteles flavipes* was imported to increase its adaptative potential in Southern Brazil. ISSCT Entomol. Newsl. 4: 11-12.

MACEDO, N. 2000. Método de criação do parasitóide *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891). p. 161-173. In: BUENO, V.H.P. (ed.), **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. Editora UFLA, Lavras. 196p.

MACKAUER, M.; WAY, M. J. 1976. *Myzus persicae*, an aphid of world importance. p. 51-117. In: DELUCCHI, V.L. (ed.), **Studies on biological control**. Cambridge University Press, Cambridge.

MELO, I.S. & J.L. AZEVEDO (eds.). 1998, 2000. **Controle biológico, vol 1, 2 e 3**. Embrapa, Jaguariúna, 264, 388 e 388 p.

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 19<sup>th</sup> Congress of International Society of Sugarcane Technologists, São Paulo.

MONTEIRO, L. B. 2002. Criação de ácaros fitófagos e predadores: um caso de produção de *Neoseiulus californicus* por produtores de maçã. p. 351-365. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (eds.), **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. Editora Manole, São Paulo. 609p.

PARRA, J. R. P. 1993. Controle biológico e o manejo integrado de pragas. In: Simpósio de agricultura ecológica. Campinas, Anais..., p. 116-139.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. 2002. **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. Editora Manole, São Paulo. 609p.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. 2002. Controle biológico: uma visão inter e multidisciplinar. p. 125- 142. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (eds.), **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. Editora Manole, São Paulo. 609p.

POINAR JR., G.O. & G.M. THOMAS. 1984. **Laboratory guide to insect pathogens and parasites**. Plenum Press, New York. 408 p.

RAVENSBERG, W. J. 1992. Production and utilization of natural enemies in western european glasshouse crops. p. 465-487. In: ANDERSON, T. E.; LEPPLA, N. C. (eds.), **Advances in insect rearing for research and pest management**.

SALVADORI, J. R.; SALLES, L. A. B. 2002. Controle biológico dos pulgões do trigo. p. 427-447. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (eds.), **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. Editora Manole, São Paulo. 609p.

SMITH, K.M. 1967. **Insect virology**. Academic Press, New York. 256 p.

STEINHAUS, E.A. 1963. (ed.). **Insect pathology: an advanced treatise. vol. I, II**. Academic Press, New York. 661, 689 p.

SUMMERS, M., R. ENGLER, L.A. FALCON & P.V. VAIL. 1975. **Baculoviruses for insect pest control. Safety considerations**. Am. Soc. Microbiol., Washington. 186 p.

TANADA, Y. & H.K. KAYA. (eds.). 1993. **Insect Pathology**. Academic Press, San Diego. 666 p.

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

VAN LENTEREN, J. C. 2000. Critérios de seleção de inimigos naturais a serem usados em programas de controle biológico. p. 1-19. In: BUENO, V.H.P. (ed.), **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. Editora UFLA, Lavras. 196p.

VAN LENTEREN, J.C. 1995. Integrated pest management in protected crops. p. 311-343. In: DENT, D. (ed.), **Integrated pest management**. Chapman & Hall, London.

VAN LENTEREN, J.C. 2000. Success in biological control of arthropods by augmentation of natural enemies. p. 77-103. In: GURR, G.; WRATTEN, S. (eds.), **Biological control: measures of success**. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands. 429p.

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

WALDER, J. M. M. 2002. Produção de moscas-das-frutas e seus inimigos naturais: associação de moscas estéreis e controle biológico. p. 181- 190. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (eds.), **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. Editora Manole, São Paulo. 609p.

WHEELER, Q. & M. BLACKWELL. (eds.). 1984. **Fungus-insect relationships. Perspectives in ecology and evolution**. Columbia University Press, New York. 514 p.

ZANUNCIO, J. C.; GUEDES, R. N. C.; OLIVEIRA, H.N.; ZANUNCIO,T.V. 2002. Uma década de estudos com percevejos predadores: conquistas e desafios. p. 495-509. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (eds.), **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. Editora Manole, São Paulo. 609p.

## Legendas das Figuras

Figura 1. Efeito da liberação de um parasitóide ou predador na redução populacional da praga (segundo Parra *et.al.*, 2002.)

Figura 2. Fluxograma das etapas de um Programa de Controle Biológico (segundo Van Lenteren, 2000 e Parra *et.al.*, 2002)

Figura 3. Liberação do parasitóide *Lysiphlebus testaceipes* para controle biológico de *Aphis gossypii* em crisântemo de corte (cultivar White Reagan) em casa de vegetação.

Figura 4. Elementos do agroecossistema a ser estudados na relação cigarrinha-da-cana-de-açúcar x fungo *Metarhizium anisopliae* (Alves, 1998)

Figura 5. Curva epizoótica para população de cigarrinha-da-cana-de-açúcar x fungo *Metarhizium anisopliae* (Alves, 1998)

Figura 6. Suscetibilidade das diferentes fases de desenvolvimento da cigarrinha-da-cana-de-açúcar ao fungo *Metarhizium anisopliae* (Alves, 1998)

Figura 7. Exemplo de fator relacionado ao ambiente: temperatura (Alves, 1998)