



Controle Microbiano de pragas

Italo Delalibera Junior
Departamento de Entomologia e Acarologia,
ESALQ-USP

1

Prano de aula

- Há quanto tempo o controle microbiano de pragas é usado?
- Quais são os produtos que estão no mercado brasileiro?
- Quais são as pragas que podem ser controladas com microrganismos?
- Quais são as vantagens e desvantagens em se usar agentes microbianos de controle?
- Em que sentido o controle microbiano se diferencia do controle químico?

INTRODUÇÃO

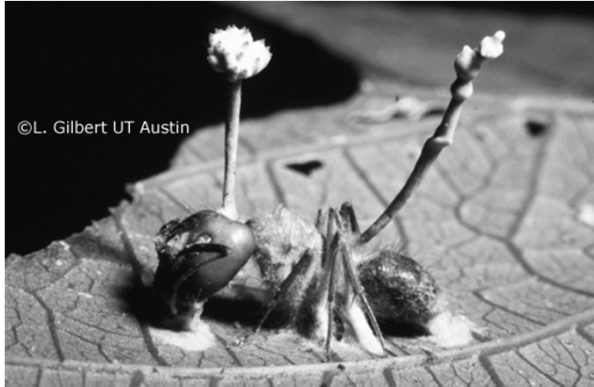
Mercado Brasileiro de pesticidas

- Posição do Brasil no mercado mundial de pesticidas (consumo)

2001	7º. com 328,4 milhões de toneladas (fonte Anvisa)
2006	2º. (fonte Anvisa)
2012	1º. (fonte SINDAG)

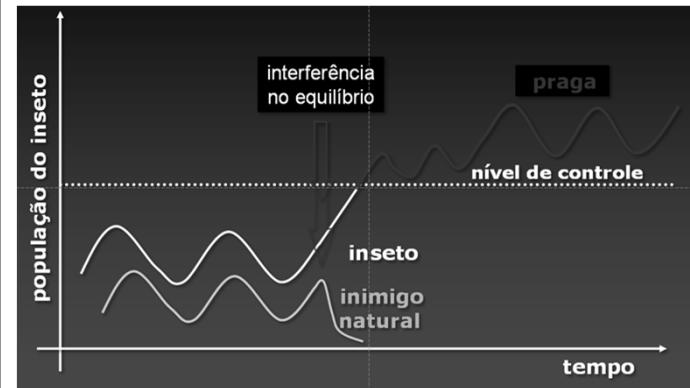
823,2 mil ton de agrotóxicos = US\$12 bilhões
Dos 280 i.a. < 30 são produzidos em solo nacional
- Entre 1990 e 2010, o mercado brasileiro cresceu 576%, enquanto o mercado mundial aumentou 83%. Mesmo assim há perdas de US\$12bi anuais por pragas (Oliveira et al. 2012)
- O consumo de inseticidas na citricultura, de 2003 até os dias atuais aumentou 600%. São aplicados 17,5 kg/ha de ingrediente ativo
Estimativa dos biológicos US\$86 milhões (<1% do mercado de agrotóxicos com 15% de crescimento anual).

Vídeo sobre crescimento de *Cordyceps*



Formiga *Camponotus* com *Cordyceps lloydii*

O que pode levar um inseto a se tornar praga?



Fonte: Luis Cláudio P. Silveira - UFLA

6

Evolução do problemas com pragas em soja: estudo de caso

Introdução da ferrugem asiática levou a aplicação preventiva de fungicidas

Introdução de *Helicoverpa armigera*

Introdução da soja transgênica e aumento do uso de herbicida pós-emergente

Aplicações de inseticidas de amplo espectro

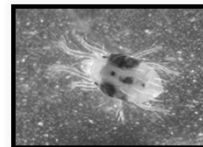
Pragas secundárias como lagartas e ácaros tornaram-se pragas primárias

Redução das populações de fungos patogênicos a lagartas e ácaros

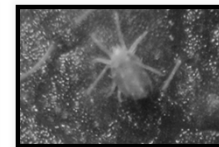
Desequilíbrio de predadores e parasitóides

PRINCIPAIS ÁCAROS DA SOJA

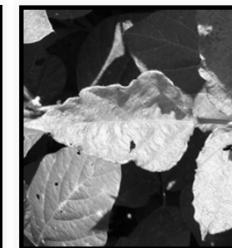
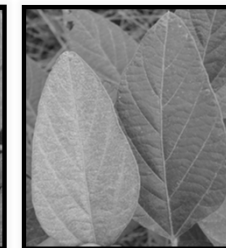
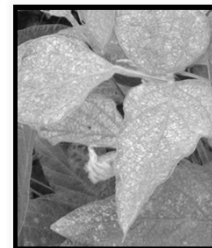
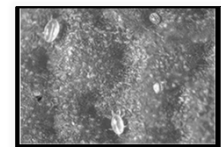
ÁCARO-RAJADO



ÁCARO-VERDE

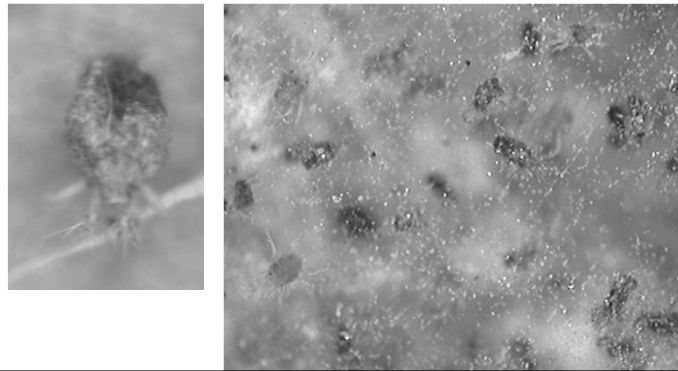


ÁCARO-BRANCO

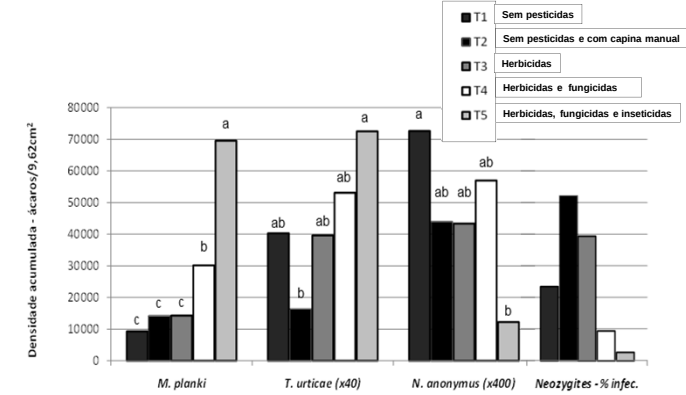


Epizootias naturais reduzem drasticamente as populações de ácaros

Um dos principais fatores de regulação das populações de *Tetranychidae* em diferentes cultivos



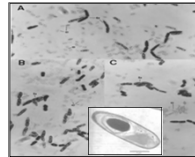
DINÂMICA DE ÁCAROS TETRANIQUÍDEOS EM SOJA 2008/2009



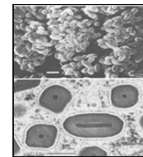
Grupos de entomopatógenos



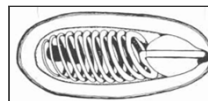
Fungos



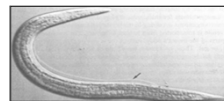
Bactérias



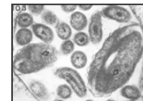
Vírus



Protozoários



Nematóides

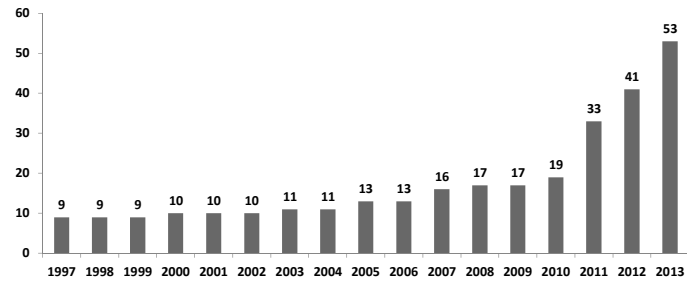


Rickétsias

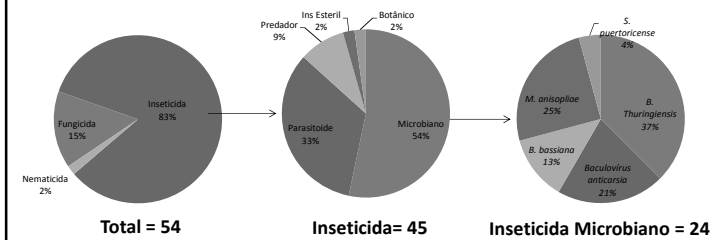
Histórico de Registros

>1997	2000	2003	2005	2007	2008	2010	2011	2012	2013
Dipel WP	Baculo-Soja	KeepDry	Boveril WP	Trichodermil SC	Baculovirus AEE	Cotesia BUG	Affaguard	Methamax EC	Cotesia Agrobio
Able			Metarril WP	Azamax		Bionen	Neomip	Ballveria	Cotesia Fitoagro
Bac Control				Dipel WG			TrichoBug	Cotesia Cetma	Cotesia Bioresult
Thuricide							Quality	Cotesia Bioeffect	Cotesia Paraguacu
Xentari							Sonata	Cotesia MCP	Cotesia TF
Bactur							Serenade	Metie	Feican (cotesia)
Protege							Biometra	Tricho-Strip	Metarril WP Biocontrol
Agree							Ecometa	Trichovab	Neomip Max
Dipel							Biotesia		Spical
							Cotesia Biocana		Macromip max
							Cotesia Biocontrol		Ecotrich
							Bovemax EC		Nemat AP
							Trichoderma x EC		
							Inseto estéril Moscamed		

Número acumulado de Registros



Produtos Biológicos por segmento

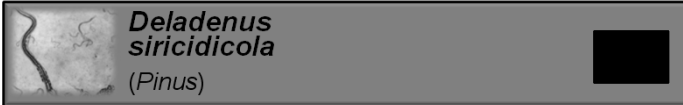


	Microrganismo	Nome comercial	Empresa	Isolado	Formulação
1	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Biometha GR Plus	Biotech	PL43	GR
2		Eco Meta	Toyobo	IBCB425	WP
3		Metarril	Koppert	E9	WP
4		Metariz	Biocontrol	IBCB425	WP
5		Methamax	Novozymes	IBCB348	OD
6		Metiê	Ballagro	IBCB 425	WP
7	<i>Beauveria bassiana</i>	Boveril	Koppert	PL63	WP
8		Ballvéria	Ballagro	IBCB 66	WP
9		Bovemax	Novozymes	CG716	OD
10	Bt	Able	Sipcam UPL		SC
11		Agree	Bio Controle		WP
12		Bac Control	VectorControl		WP
13		Bactur WP	Milenia		WP
14		Dipel	Sumitomo		SC
15		Dipel WP	Sumitomo		WP
16		Dipel WG	Sumitomo		WG
17		Thuricide	Bio Controle		WP
18		Xentari	Sumitomo		WG
19	Baculovirus	Baculo Soja	Novozymes		WP
20		Baculovirus AEE	AEE		WP
21		Baculovirus Nitral	Nitral		WP
22		Coopervirus PM	Bosquirol		WP
23		Protege	Milenia		WP
24	<i>Steinernema</i>	Bionep	Bio Controle		SC

Área tratada com biológicos no Brasil microrganismos



Área tratada com biológicos no Brasil microrganismos



Controle microbiano x químico

- Agentes de controle microbianos são entidades biológicas e devem ser tratados de forma diferente dos pesticidas químicos. Por isso, é importante conhecer como estes agem nos hospedeiros para assegurar um controle eficiente.

- Fatores bióticos e abióticos tendem a diminuir o inóculo disponível.

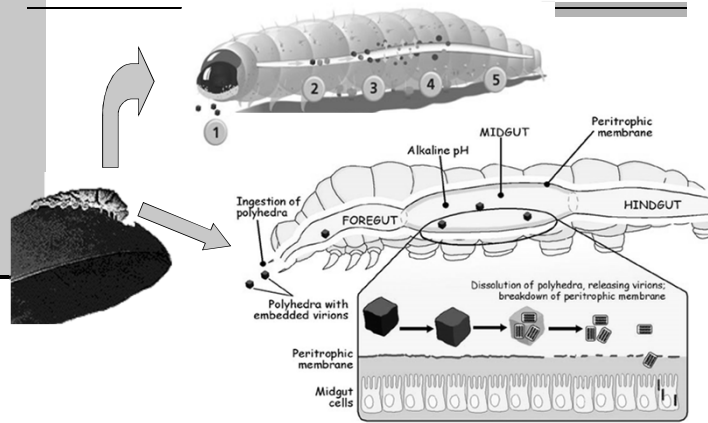
Meia-vida:

- vírus (< 1 dia),
- esporos de Bt (< 3 dias)
- conídio de *N. rileyi* (7 dias),
- *Bacillus popilliae* (até 25 anos).



Modo de infecção:

Via oral em bactérias, protozoários e vírus



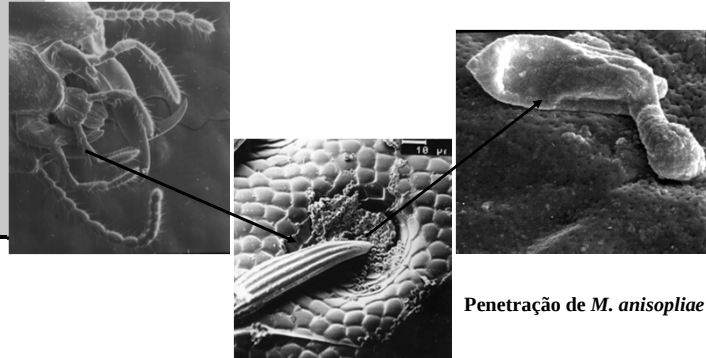
Desenvolvimento de Baculovírus



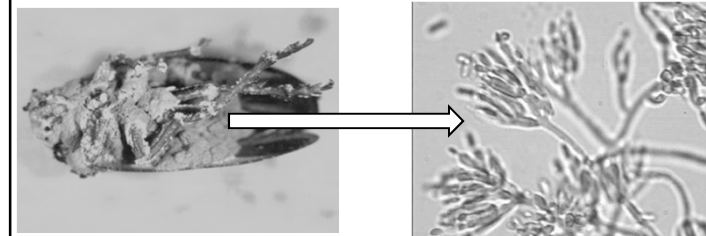
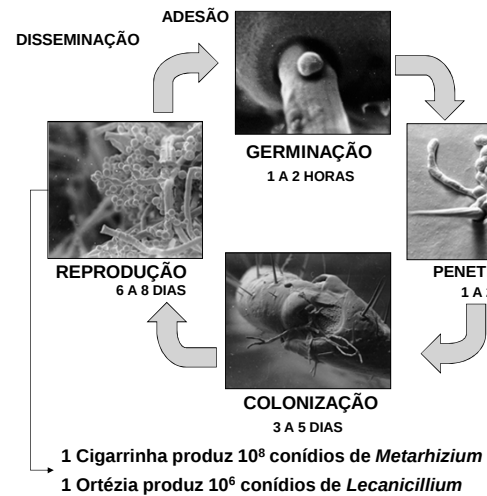
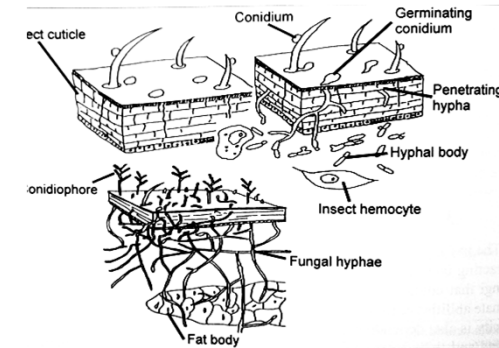
Trichoplusia ni

Gary Blissard

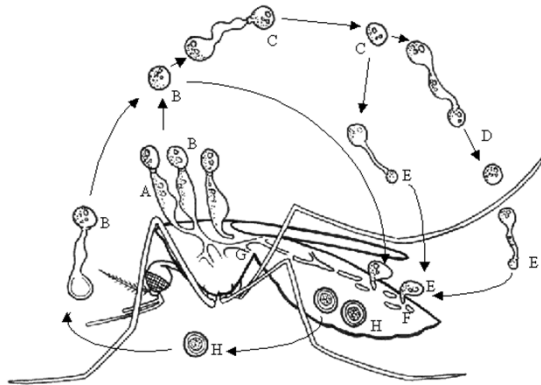
Modo de infecção: Penetração via tegumento em fungos



Colonização



Ciclo generalizado de um Entomophthorales



Usos de entomopatógenos no manejo de pragas

- Controle biológico por conservação
- Liberações inoculativas visando o manejo de pragas no longo prazo
- Liberações inundativas (biopesticidas)

Controle Biológico por Conservação

Exploração ecológica

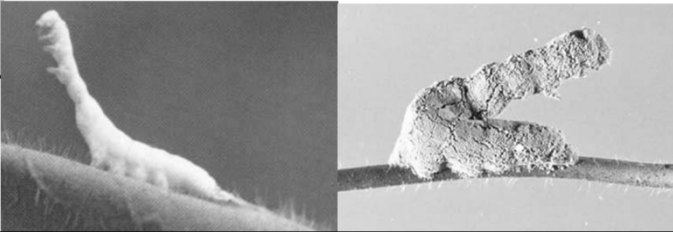
Objetivo: Maximizar a ação natural dos patógenos na regulação de pragas

- Utilização correta de produtos fitossanitários
- Utilização de produtos seletivos
- Compatibilidade de entomopatógenos com outros agentes de controle biológico
- Utilização de práticas agrícolas que melhorem a ação de entomopatógenos
- Manipulação do habitat para incrementar epizootias naturais
- Monitoramento e previsão de epizootias

Monitoramento e previsão de epizootias

Lagarta-da-soja x *Nomuraea rileyi*

1. Amostragem e tomada de decisão
2. Condições favoráveis para epizootias: <26°C e 60-100% RH
3. Conídios vivem no solo em média de 80 dias
4. Uso de pesticidas seletivos



Fluxo de dados e interação entre os modelos componentes do sistema integrado para simulação da dinâmica populacional de *A. gemmatilis*, e da epizootia provocada por *N. rileyi*



Controle Inundativo (Biopesticidas)

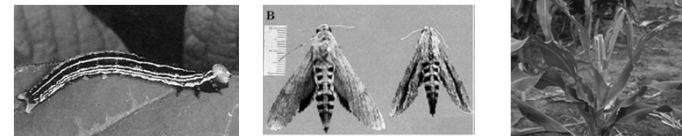
Produtos a base de fungos, bactéria e vírus no Brasil

Características das viroses

- Especificidade – infectam uma ou várias espécies de um mesmo gênero ou em alguns casos da mesma família de inseto que foi isolado
- São patógenos lentos
- São difíceis de ser produzidos “in vitro”
- Mudança de cor do tegumento - aumento da tonalidade esbranquiçada leitosa e opaca
- A larva se torna menos ativa e perde apetite
- Imediatamente antes ou após a morte o tegumento se torna frágil e o corpo consiste de uma massa fluida

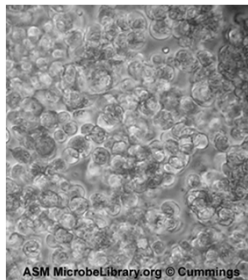
Vírus usados no controle de pragas

- Baculovírus (AgMNPV) para o controle da lagarta da soja (*Anticarsia gemmatilis*) várias empresas no sul do país.
- Granulovírus do mandaróvã-da-mandioca (*Erinnyis ello*) Embrapa Mandioca e Fruticultura tropical e IAPAR.
- Nucleopoliedrovírus (SfMNPV) da lagarta-do-cartucho-do-milho (*Spodoptera frugiperda*)
- Nucleopoliedrovírus (CoveMNPV) da lagarta-do-álamo (*Condylorrhiza vestigialis*) usado nos últimos 5 anos, 300 ha/ano no Paraná e Santa Catarina
- HzMNPV e HaMNPV para *Helicoverpa armigera*

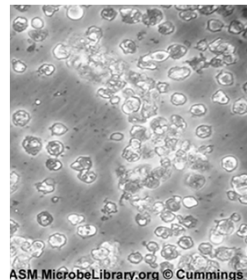


Como são produzidos os vírus?

- Produção in vivo: vírus, fungos e microsporídia
 - No próprio hospedeiro
 - Cultura de células

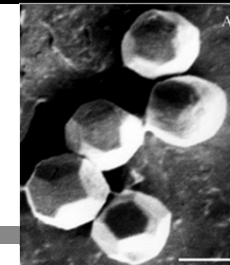


ASM MicroLibrary.org © Cummings
Cultura de células de *S. frugiperda*



ASM MicroLibrary.org © Cummings
Células de *S. frugiperda* infectadas com baculovirus

Bombix mori NPV



Produção em campo e laboratório de AgMNPV para o controle da lagarta da soja, *Anticarsia gemmatilis*

Consumo de Baculovirus AgMNPV no Brasil

2002/2003 – Produção de 45 toneladas e aplicado em 2.000.000 ha
 Área de soja tratada com AgMNPV: 192.000 ha em 2011/12
 Aumento de lagartas não susceptível *Chrysodeixis includens* possivelmente associado ao aumento de aplicações de fungicidas e consequente eliminação de fungos entomopatogênicos;
 Concorrência com Piretróides de baixo custo

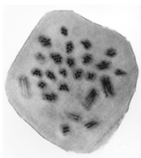
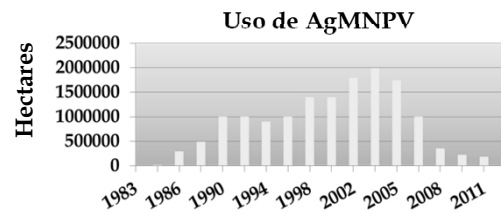


Foto: Drion G. Boucias



- Baculovirus é aplicado em campos de soja com alta infestação de lagartas (>20 lagartas/m)
- 8-10 dias depois as lagartas mortas são coletadas
- Armazenadas a -10°C

Laboratório de produção massal de AgMNPV
 COODETEC – CASCAVEL, PR

Capacidade de produção:
 800,000 lagartas/dia
 2 milhões ha/ano



Criação de insetos

Produção de vírus

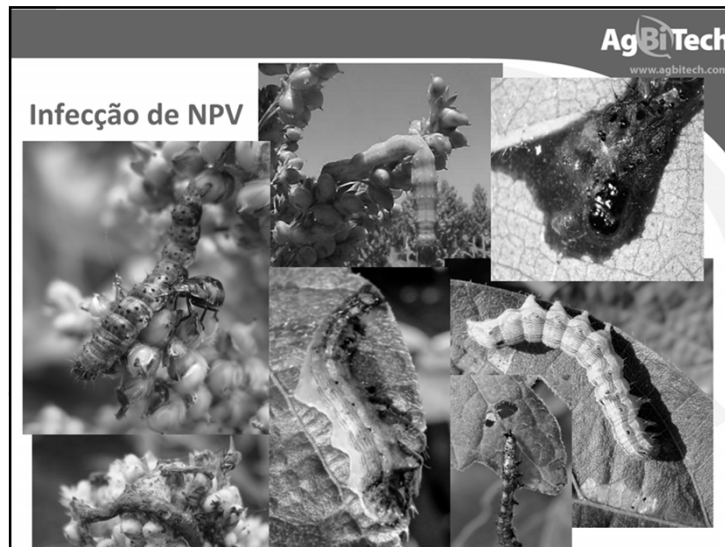
AgBiTech
 www.agbitech.com

Tamanho da larva

Helicoverpa Growth Stage Identification

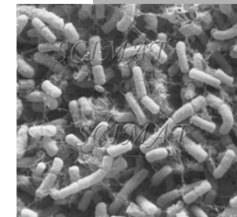
Showing the actual size of *H. armigera* larvae at a given age (days since egg hatch) when reared at 25°C

Instar	Age (days)	Old size category	Length (mm)	Actual size	HELICOVIR timing
First	0-2	Very small	1-3		✓✓
Second	2-4	Small	4-7		✓✓
Third	4-8	Medium (small)	8-13		✓
Fourth	8-11	Medium (large)	14-23		✗
Fifth	11-14	Large	24-28		✗
Sixth	14-18+	Large (snake)	29-40+		✗



Bacillus thuringiensis (Bt)

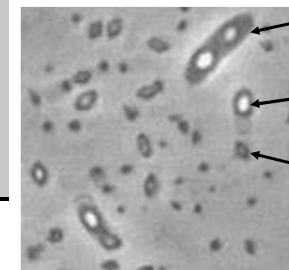
- Agente de controle microbiano mais utilizado no mundo
- Doador de genes para plantas transgênicas
- 300.000 ha/ano (Bertiol 2011).
- >1,5 milhões/ha 2012;
- 5 milhões/ha 2013



Sintomas e sinais de Bt

- Perda de apetite e abandono do alimento
- Regurgitação e diarreia
- Tegumento adquire coloração fosca (opaca) em larvas
- Perda de agilidade
- Corpo torna-se flácido com degradação dos tecidos
- Cutícula permanece intacta
- Paralisia geral e morte

Morfologia de Bt



Bactéria intacta

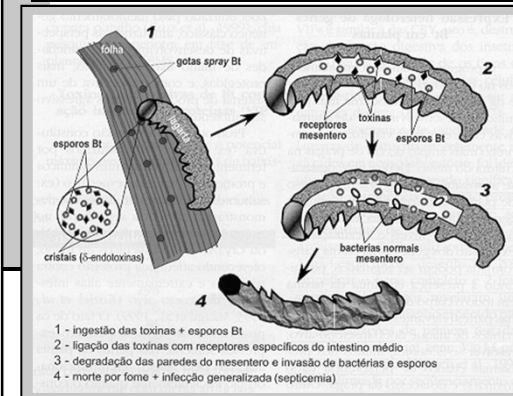
Esporo

Cristal
(Toxina Cry)

Propriedades de *Bacillus* spp.

Propriedades	Célula vegetativa	Endosporo
Resistência ao calor	baixa	Alta
Resistência a produtos químicos e ácidos	baixa	Alta
Resistência à radiação	baixa	Alta
Sensibilidade a lysozyme	Sensível ou Resistente	Resistente
Sensibilidade a corantes	Sensível	Resistente

Modo de ação de *Bt*



Cristal
 Solubilizado no trato digestivo
 ↓
 pH básico
 ↓
 Pró-toxina 135 kDa
 ↓
 Protease
 ↓
 Toxina ativa 66 kDa

Subespécies de *Bt*

- *B.t.* subsp. *kurstaki* strain HD-1 - > 100 espécies de lepidoptera
- *B.t.* subsp. *aizawai* - lepidoptera menos susceptíveis ao Btk
- *B.t.* subsp. *tenebrionis* – crisomelídeos
- *B.t.* subsp. *israelensis* - mosquitos e simuliídeos

Como são produzidas as bactérias entomopatogênicas?

- In vitro: fungos, bactérias e nematóides
 - Meios de cultura líquidos (fermentadores)



Ecogen Inc



Aplicação de Bt



Joe Churcher

Controle de larvas de mosquitos

B. thuringiensis israelensis (Bti)

- Usado amplamente no controle de vetores de doenças e menos extensivamente contra sciarídeos e forídeos
- No Brasil produtos a base de Bti foram desenvolvidos especialmente para o controle de *Aedes aegypti*

B. sphaericus

- Toxinas ativas contra larvas de mosquitos, com maior atividade a *Culex* e *Psorophora* do que Bti
- Razoável persistência em águas com > teor de matéria orgânica
- Produzido no Brasil contra *Culex quinquefasciatus*

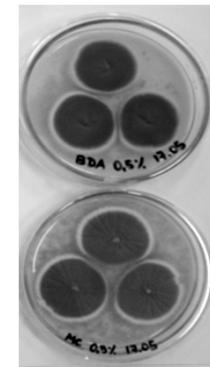
Fungos usados para controle de insetos e ácaros no Brasil

- Dezenas de empresas e marcas
- Comerciais dos fungos
 - *B. bassiana* 7
 - *M. anisopliae* 21



Como são produzidos os fungos entomopatogênicos?

- In vitro: fungos e bactérias
 - Meios de cultura sólidos



Alguns são facilmente produzidos em meios simples (Arroz)

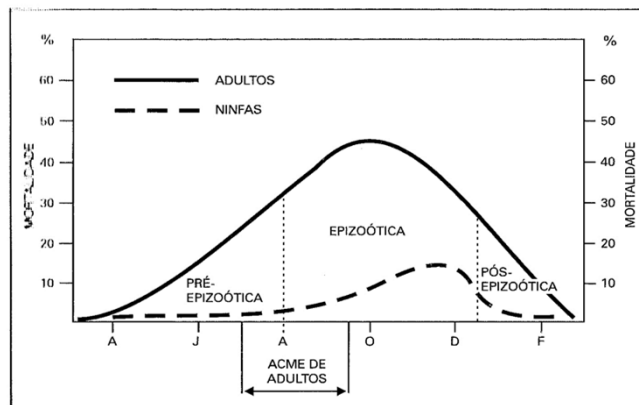
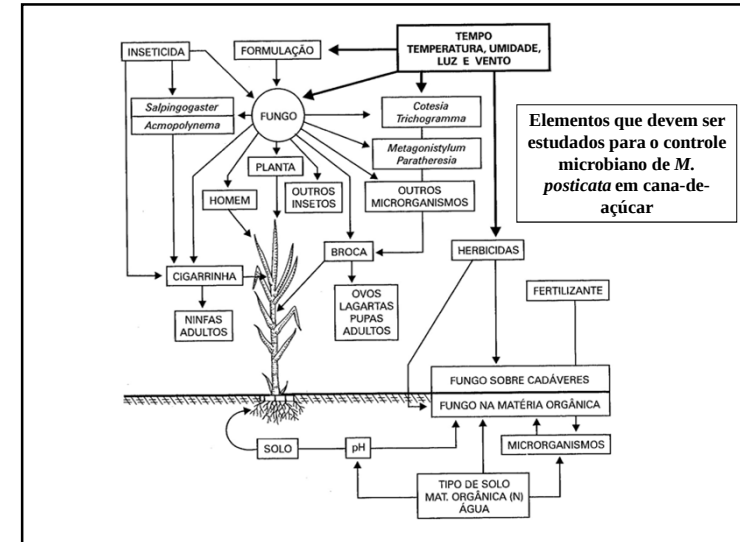
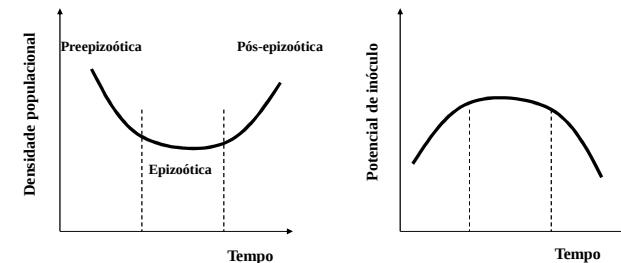


Figura 5.2. Número de adultos e ninfas de *M. posticata* contaminadas por *M. nisopliae*, nas condições do Nordeste do Brasil, mostrando diferentes fases da doença.

Progressão de uma doença na população



Metarhizium anisopliae

- Controle de cigarrinhas (*Deois flavopicta*) em pastagens - chegou a ser usado em 700.000 ha
- Controle de cigarrinhas em *Mahanarva fimbriolata* e *M. posticata* em cana-de-açúcar usado atualmente em >2.000.000 ha



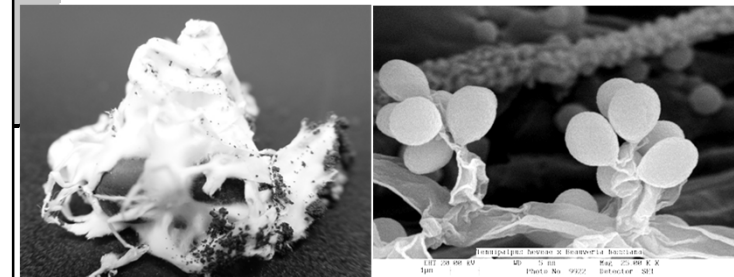
Cigarrinha das pastagens x *M. anisopliae*

Eficácia variável - 20 a 90 %

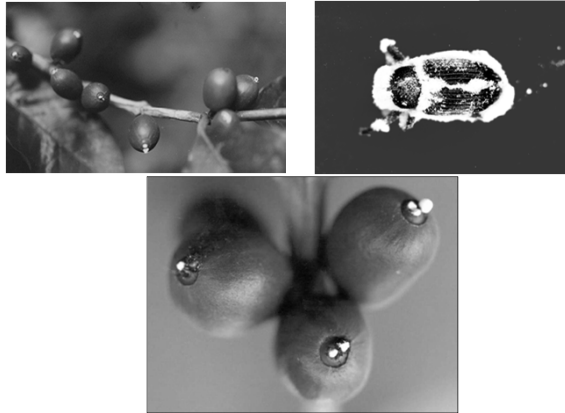


Beauveria bassiana

- Produtos no mercado brasileiro para o controle do moleque da bananeira, mosca-branca, ácaro rajado, broca-do-café, cupins
- 29.200ha/ano (Alves et al. 2008)
- 25.000ha em 2012 gorgulho do eucalipto *Gonipterus scutellatus*

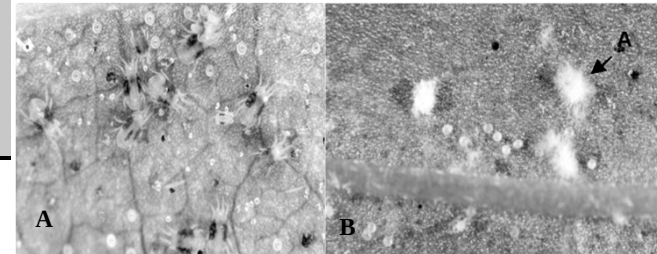


Broca-do-café x *B. bassiana*

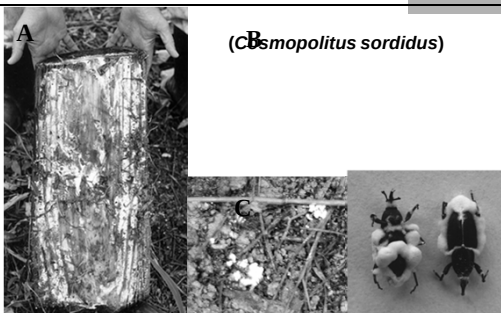


Ácaro rajado x *B. bassiana*

Planas ornamentais, mamão e ortalças
Boveril WP PL63 (Itafor)



Moleque da bananeira x *B. bassiana*



A) Pseudocaulis de bananeira impregnados com *B. bassiana*
B) Preparação de *B. bassiana* C) Adultos mortos de *C. sordidus* no solo

Pulgões x *Lecanicillium lecanii*

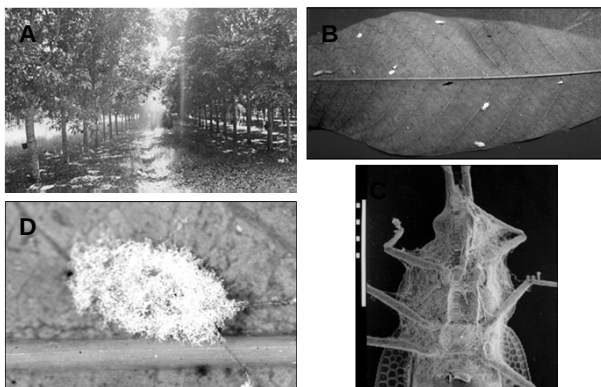




Cochonilha x *L. lecanii*



Percevejo-de-renda da seringueira



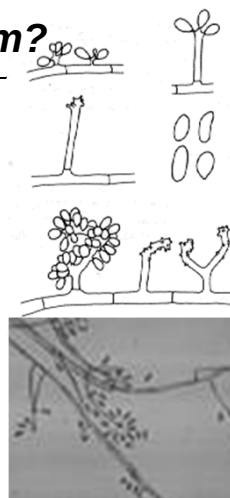
A. Pulverização; B/C. Ninfas e adultos de *L. heveae* mortos por *Sporothrix* sp.; C. Ninfas de *L. heveae* morta por *Beauveria bassiana*.

Sporothrix insectorum?

- *Lecanicillium aphanocladii*? "*Sporothrix insectorum*"
- 5.000 ha/ano (J.E.M. Almeida, inf. pessoal)

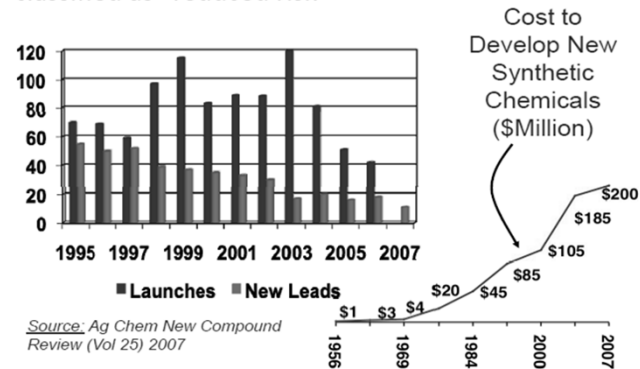
Usado no controle do percevejo da seringueira

Produzido pela Empaer, prefeitura de São José do Rio Claro-MT, BioCerto, Instituto Biológico de São Paulo



Fewer New Chemicals, Higher Cost

Only 1 new chemical waiting approval at the EPA is classified as "reduced risk"

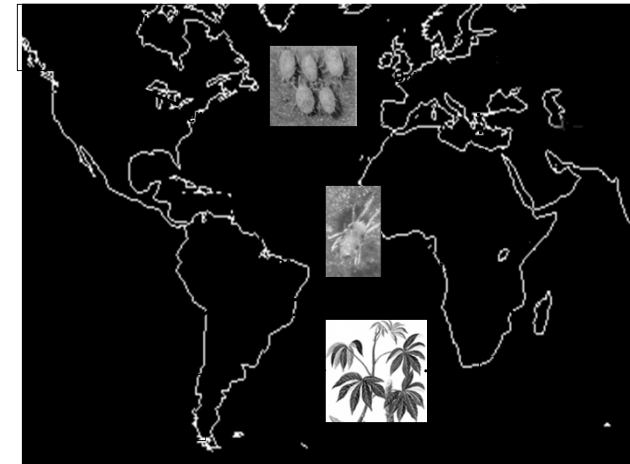


Controle biológico clássico

Introdução de *Neozygites* spp. do Brasil para a África para o controle do ácaro verde da mandioca e do ácaro vermelho do tomateiro

Controle biológico clássico com *N. tanajoae* e *N. floridana*

- 1 – Ácaro verde da mandioca, *Mononychellus tanajoa* com o fungo *N. tanajoae*
- 2 – Ácaro vermelho do tomateiro, *Tetranychus evansi* com o fungo *N. floridana*



Etapas em CBC

- ✓ Busca por inimigos naturais
 - Importância na regulação populacional
 - Epizootiologia
 - Seleção de strains
- ✓ Avaliação de impacto em organismos não-alvo
- ✓ Importação e exportação
- ✓ Identificação do patógeno: Desenvolvimento de sonda molecular

Resultado das liberações de *N. tanajoae* em Benin

Antes de 1998	< 5%
1998-1999	introdução de isolados brasileiros
1999-2000	até 45%
2001	até 70%

Vantagens e desvantagens do CM

Vantagens

- Especificidade e seletividade
- Multiplicação e dispersão no ambiente
- Produção em meios de cultura artificial simples
- Efeitos subletais
- Controle mais duradouro
- Poluição e toxicidade
- Menor risco de resistência

Desvantagens

- Menor espectro de ação
- Ação mais lenta
- Eficiência determinada por condições ambientais
- Menor período de prateleira
- Condições especiais de armazenamento
- Presença de insetos mortos nos produtos tratados

Fatores que afetam a eficiência dos patógenos

Temperatura

- Afeta a ocorrência natural dos patógenos e no seu armazenamento e aplicação
 - muitos microrganismos não possuem mecanismos de defesa contra esse fator
- Faixa favorável: 20 a 30°C
- Armazenamento: -196 a 4°C

Vírus:

- Produção: coincide com a faixa favorável ao inseto, ou seja, 25 a 29°C.
- Temperaturas elevadas: inseto menos suscetível ao vírus

Fungos:

- Afeta metabolismo, produção de enzimas, germinação, penetração, colonização, reprodução
- Faixa favorável: 20 a 30°C, média de 27°C

Fatores que afetam a eficiência dos patógenos

Umidade e chuva

Vírus:

- são menos afetados que outros patógenos. O efeito mecânico das chuvas não diminui muito a atividade desses patógenos

Fungos:

■ Umidade:

- germinação e reprodução exigem 95% de UR
- Campo: epizootias correlacionadas com UR de 70 a 100%

■ Chuva: favorece a disseminação de esporos; prejudica a doença quando ocorre com grande intensidade durante a formação dos focos primários

Fatores que afetam a eficiência dos patógenos

Radiação e fotoperíodo

Fungos:

- Atua sobre a germinação e fases iniciais do crescimento
- Entomophthorales: ejeção de conídios no período noturno
- *B. bassiana*: luz solar direta causa inibição em 3 horas

Vírus:

- Não resistem 24 horas de exposição à radiação solar
- Protetores de UV: carvão vegetal, levedo-de-cerveja, detergentes, amaciantes, albumina de ovo, etc.

Fatores que afetam a eficiência dos patógenos

Fatores não-climáticos

Solo:

↳ grande reservatório de insetos e patógenos, apesar da capacidade antagônica

- ↳ Fases de resistência: esporos, clamidósporos, sinema, ovos de nematóides, poliedros de vírus, cadáveres de insetos

Discussão

- Se controle microbiano apresenta tantas vantagens por que não é mais extensivamente utilizado ?

© Original Artist
Reproduction rights obtainable from
www.CartoonStock.com



Finja-se de morto! Nós temos que fazer eles pensarem que a nova pulverização funcionou.