

BIOINSUMOS NA CULTURA DA SOJA



Maurício Conrado Meyer
Adeney de Freitas Bueno
Sergio Miguel Mazaro
Juliano Cesar da Silva
EDITORES TÉCNICOS

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

Bioinsumos na cultura da soja

*Maurício Conrado Meyer
Adeney de Freitas Bueno
Sérgio Miguel Mazaro
Juliano Cesar da Silva*

Editores Técnicos

*Embrapa
Brasília, DF
2022*

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Soja

Rodovia Carlos João Strass, acesso Orlando Amaral, Distrito de Warta
Caixa Postal 231, CEP 86001-970, Londrina, PR
Fone: (43) 3371 6000 Fax: (43) 3371 6100
www.embrapa.br/
www.embrapa.br/fale-conosco/sac/

Unidade responsável pelo conteúdo e edição

Embrapa Soja

Comitê Local de Publicações

Presidente: *Alvadi Antonio Balbinot Junior*

Secretária-Executiva: *Regina Maria Villas Bôas de Campos Leite*

Membros: *Claudine Dinali Santos Seixas, Edson Hirose, Ivani de Oliveira Negrão Lopes, José de Barros França Neto, Liliane Márcia Mertz-Henning, Marco Antonio Nogueira, Mônica Juliani Zavaglia Pereira e Norman Neumaier*

Supervisão editorial: *Vanessa Fuzinatto Dall'Agnol*

Normalização bibliográfica: *Valéria de Fátima Cardoso*

Projeto gráfico e editoração eletrônica: *Edil Gomes*

Capa: *Vanessa Fuzinatto Dall'Agnol*

1ª edição: 2022

1ª impressão: PDF digitalizado

O conteúdo do livro, bem como a exatidão das citações e referências, são de inteira responsabilidade dos autores.

Todos os direitos reservados.

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

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Soja

Bioinsumos na cultura da soja / Maurício Conrado Meyer... [et al.] editores técnicos – Brasília,
DF: Embrapa, 2022.
550 p.

ISBN: ISBN: 978-65-87380-96-4

1. Soja. 2. Produção vegetal. 3. Insumo. 4. Fertilizante. I. Meyer, Maurício Conrado. II. Bueno, Adeny de Freitas. III. Mazaró, Sérgio Miguel. IV. Silva, Juliano Cesar da.

CDD: 633.34: 631.8 (21. ed.)

Valéria de Fátima Cardoso (CRB 9/1188)

©Embrapa, 2022

Adeney de Freitas Bueno

Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia, pesquisador da Embrapa Soja, Londrina, PR.

Admir José Giachini

Engenheiro-agrônomo, doutor em Microbiologia, professor da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC.

Adriano Thibes Hoshino

Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, pós-doutorando da Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR.

Alcides Moino Júnior

Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia, professor Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

Alexandre de Sene Pinto

Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia, professor do Centro Universitário Moura Lacerda, Ribeirão Preto, SP.

Alexandre Ferreira da Silva

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitotecnia, pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

Alexandre José Ferreira Diniz

Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia, pós-doutorando da ESALQ/USP, Piracicaba, SP.

Aloísio Coelho Júnior

Biólogo, doutor em Entomologia, pós-doutorando da ESALQ/USP, Piracicaba, SP.

Amália Cristina Piazzentim Borsari

Engenheira-agrônoma, diretora executiva de biológicos da CropLife Brasil, São Paulo, SP.

André Alves de Castro Lopes

Engenheiro-agrônomo, Secretaria do Meio Ambiente, Formosa, GO.

Andressa Cristina Zamboni Machado

Engenheira-agrônoma, doutora em Agronomia, pesquisadora do Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná, Londrina, PR.

Angélica Miamoto

Engenheira-agrônoma, doutoranda em Agronomia da Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR.

Bergmann Moraes Ribeiro

Biólogo, doutor em Microbiologia, Professor da Universidade de Brasília, Brasília, DF.

Bianca Vique Fernandes Narde

Engenheira-florestal, doutora em Fitopatologia, CEO da JB Biotecnologia, Paraopeba, MG.

Carlos Alberto Arrabal Arias

Engenheiro-agrônomo, doutor em Genética e Melhoramento, pesquisador da Embrapa Soja, Londrina, PR.

Carlos Alberto Casali

Engenheiro-agrônomo, doutor em Ciência do Solo, professor na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, PR.

Caroline Sayuri Nishisaka

Biotecnologista, doutoranda em Microbiologia Agrícola pela ESALQ/USP, Piracicaba, SP.

Christiane Abreu de Oliveira-Paiva

Engenheira-agrônoma, doutora em Biologia Vegetal, pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

Cidimar Cassol

Engenheiro-agrônomo, mestre em Agronomia, doutorando em pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, PR.

Clara Beatriz Hoffmann Campo

Bióloga, doutora em Entomologia, pesquisadora da Embrapa Soja, Londrina, PR.

Cláudia Regina Dias-Arieira

Engenheira-agrônoma, doutora em Fitopatologia, professora da Universidade Estadual de Maringá, Umuarama, PR.

Cláudia Vieira Godoy

Engenheira-agrônoma, doutora em Fitopatologia, pesquisadora da Embrapa Soja, Londrina, PR.

Claudine Dinali Santos Seixas

Engenheira-agrônoma, doutora em Fitopatologia, pesquisadora da Embrapa Soja, Londrina, PR.

Cláudio Roberto Fonsêca Sousa Soares

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

Daniel Dalvan do Nascimento

Engenheiro-agrônomo, doutorando em Agronomia pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, SP.

Daniel Mendes Pereira Ardisson de Araújo

Biólogo, doutor em Biologia Molecular, professor da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

Daniel Ricardo Sosa-Gómez

Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia, pesquisador da Embrapa Soja, Londrina, PR.

Deise Cagliari

Engenheira-agrônoma, doutoranda em Fitossanidade da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.

Edson Hirose

Engenheiro-agrônomo, doutor em Ciências Biológicas, pesquisador da Embrapa Soja, Londrina, PR.

Eliane Aparecida Gomes

Bióloga, doutora em Genética e Melhoramento, pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

Elisângela de Souza Loureiro

Engenheira-agrônoma, doutora em Proteção de Plantas, professora da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Chapadão do Sul, MS.

Everton Ricardi Lozano

Biólogo, doutor em Agronomia, professor da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, PR.

Fábio Bueno dos Reis Júnior

Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, pesquisador da Embrapa Cerrados, Planaltina, DF.

Fábio Henrique Rojo Baio

Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, professor da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Chapadão do Sul, MS.

Fabício Fagundes Pereira

Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia, professor da Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MT.

Fernanda Caroline Colombo

Bióloga, doutoranda em Agronomia pela Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR.

Fernanda Carvalho Lopes de Medeiros

Engenheira-agrônoma, doutora em Agronomia, professora da Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

Fernando Garcia Nicodemos

Engenheiro-mecânico, doutor em Engenharia Aeronáutica e Mecânica, CEO da NCB Sistemas Embarcados, São José dos Campos, SP.

Fernando Storniolo Adegas

Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, pesquisador da Embrapa Soja, Londrina, PR.

Fernando Teruhiko Hata

Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, professor na Universidade Estadual Londrina, Londrina, PR.

Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros

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

Geovanny Soares Pauferro Barroso

Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia, pós-doutorando em Entomologia e Acarologia na ESALQ/USP, Piracicaba, SP.

Geraldo Andrade Carvalho

Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia, professor da Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

Géri Eduardo Meneghello

Engenheiro-agrônomo, doutor em Ciência e Tecnologia de Sementes, professor da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.

Germani Concenço

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitotecnia, pesquisador da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS.

Gileno Vieira Lacerda Júnior

Biólogo, doutor em Genética de Microrganismos, pós-doutorando da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP.

Guilherme Montandon Chaer

Engenheiro-agrônomo, doutor em Ciências do Solo, pesquisador da Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ.

Guilherme Passerini Bavia

Engenheiro-agrônomo, mestre em Agronomia, pesquisador da Alltech Crop Science, Maringá, PR.

Hélio Danilo Quevedo

Biólogo, doutorando em Microbiologia Agrícola da ESALQ/USP, Piracicaba, SP.

Iêda de Carvalho Mendes

Engenheira-agrônoma, doutora em Ciências do Solo, pesquisadora da Embrapa Cerrados, Planaltina, DF.

Italo Delalibera Júnior

Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia, professor da ESALQ/USP, Piracicaba, SP.

Itamar Soares de Melo

Engenheiro-agrônomo, doutor em Genética e Melhoramento de Plantas, pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP.

Ivanildo Evódio Marriel

Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

Jean Carlo Possenti

Engenheiro-agrônomo, doutor em Ciência e Tecnologia de Sementes, professor da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, PR.

Joaquim do Nascimento

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

José Roberto Postali Parra

Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia, professor da ESALQ/USP, Piracicaba, SP.

Juliano Cesar da Silva

Engenheiro-agrônomo, doutor em Proteção de Plantas, gerente de assuntos regulatórios da Biotrop Soluções Biológicas e Participações Ltda, Vinhedo, SP.

Juliano de Bastos Pazini

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitossanidade, pós-doutorando da ESALQ/USP, Piracicaba, SP.

Laércio Ricardo Sartor

Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, professor da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, PR.

Leandro Eugenio Cardamone Diniz

Biólogo, doutor em Genética e Melhoramento, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

Leandro Moraes de Souza

Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, extensionista rural da Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do DF (EMATER-DF), Brasília, DF.

Leila Campos Vieira

Engenheira-agrônoma, gestora de projetos da CropLife Brasil, São Paulo, SP.

Luis Garrigós Leite

Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia, pesquisador no Instituto Biológico, Campinas, SP.

Luis Gustavo Amorim Pessoa

Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, professor da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Chapadão do Sul, MS.

Marcelo Mueller de Freitas

Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, pós-doutorando da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, SP.

Marcio Martinello Sanches

Biólogo, doutor em Proteção de Plantas, pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

Marco Antonio Nogueira

Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, pesquisador da Embrapa Soja, Londrina, PR.

Marcos Rodrigues de Faria

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

Maria Inês Lopes de Oliveira

Engenheira-agrônoma, doutora em Agronomia, pós-doutoranda na Embrapa Cerrados, Planaltina, DF.

Mariangela Hungria

Engenheira-agrônoma, doutora em Agronomia, pesquisadora da Embrapa Soja, Londrina, PR.

Marlinda Lobo de Souza

Bióloga, doutora em Ciências Naturais, pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

Mauricio Conrado Meyer

Engenheiro-agrônomo, doutor em Proteção de Plantas, pesquisador da Embrapa Soja, Londrina, PR.

Michele Potrich

Bióloga, doutora em Agronomia, professora da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, PR.

Moises João Zotti

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitossanidade, professor da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.

Murillo Lobo Junior

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antonio de Goiás, GO.

Natasha Sant'Anna Iwanicki

Engenheira-agrônoma, doutora em Entomologia da ESALQ/USP, Piracicaba, SP.

Orcial Ceolin Bortolotto

Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, professor na Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, PR.

Ozanival Dario Dantas da Silva

Bacharel em ciências da computação, mestre em Engenharia Elétrica e de Computação, analista da Embrapa Cerrados, Planaltina, DF.

Patrick Marques Dourado

Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia, líder de Manejo de Resistência da Bayer CropScience, São Paulo, SP.

Paulo Cesar Conceição

Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia, professor da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, PR.

Paulo Emílio Lovato

Engenheiro-agrônomo, doutor em Ciências da Vida, professor da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

Pedro Manuel Oliveira Janeiro Neves

Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia, professor da Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR.

Priscila Ferreira dos Santos-Goulart

Engenheira-agrônoma, doutora em Fitossanidade, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO.

Rafael Moreira Soares

Engenheiro-agrônomo, doutor em Proteção de Plantas, pesquisador da Embrapa Soja, Londrina, PR.

Raiza Abati

Engenheira-agrônoma, mestranda em Agroecossistemas pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, PR.

Renan da Silva Macedo

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitossanidade, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO.

Renato Jun Horikoshi

Engenheiro-agrônomo, mestre em Entomologia, pesquisador de Manejo de Resistência da Bayer CropScience, São Paulo, SP.

Ricardo Antonio Polanczyk

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

Rodolfo Pontes Carneiro

Engenheiro-agrônomo, Centro Universitário Moura Lacerda, Ribeirão Preto, SP.

Rodrigo Mendes Antunes Maciel

Zootecnista, doutorando em Entomologia da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.

Rodrigo Mendes

Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP.

Rogerio Biaggioni Lopes

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

Rone Batista de Oliveira

Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, professor da Universidade Estadual do Norte do Paraná-UENP, Bandeirantes, PR.

Sergio Miguel Mazaro

Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, professor da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, PR.

Shantau Camargo Gomes Stoffel,

Engenheira-agrônoma, doutoranda em Recursos Genéticos Vegetais pela Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

Simone de Melo Santana-Gomes

Engenheira-agrônoma, doutora em Agronomia, professora da Universidade Estadual de Maringá, Umuarama, PR.

Sylvia Morais de Sousa Tinoco

Bióloga, doutora em Genética e Biologia Molecular, pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

Ubiraci Gomes de Paula Lana

Químico, doutor em Genética, analista da Embrapa Milho e Sorgo e professor do Centro Universitário de Sete Lagoas (UNIFEMM), Sete Lagoas, MG.

Ulisses Rocha Antuniassi

Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, professor da Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Botucatu, SP.

Vanessa Andaló Mendes de Carvalho

Engenheira-agrônoma, doutora em Agronomia, professora na Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo, MG.

Vera Maria Carvalho Alves

Engenheira-agrônoma, doutora em Ciências Biológicas, pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

Viviane Sandra Alves

Bióloga, doutora em Entomologia, professor na Universidade Estadual do Norte do Paraná, Campus Cornélio Procópio, PR.

Wagner Bettiol

Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP.

Yelitza Coromoto Colmenarez

Engenheira-agrônoma, doutora em Proteção de Plantas, diretora do escritório do CABI para América Latina, Botucatu, SP.

APRESENTAÇÃO

O Brasil é líder mundial no uso de bioinsumos na cultura da soja, fruto do trabalho árduo da pesquisa ao longo de décadas, do investimento industrial, da adoção das tecnologias pelos técnicos e produtores, bem como, dos recentes avanços na legislação quanto ao registro de novos produtos.

Tais produtos como os bioestimulantes, biorreguladores, agentes biológicos de controle, biofertilizantes e inoculantes vem propiciando o avanço da agricultura regenerativa, inserida no contexto mundial pautado pela produção sustentável.

Esse caminho inovador vem fomentando áreas da ciência como a metagenômica e metabolômica, além dos avanços da indústria de máquinas e equipamentos, tecnologia de aplicação, sensores, imagens de satélites, tecnologias estas que interagem para atenderem este “novo agro”.

Muitas pesquisas básicas e aplicadas com bioinsumos vêm sendo desenvolvidas no Brasil, entretanto, existia a necessidade da compilação destas informações técnicas em um livro, desta forma, os editores reuniram informações que irão contribuir no processo produtivo das culturas, com destaque especial para a soja.

A Embrapa Soja almeja que este livro possa auxiliar no suporte técnico visando a adoção correta dos bioinsumos, no incentivo para o desenvolvimento de novas pesquisas e inovações tecnológicas, no aprimoramento das legislações, para uma agricultura com alto potencial produtivo e alicerçada na preservação ambiental.

Alexandre Lima Nepomuceno
Chefe Geral
Embrapa Soja

Os sistemas produtivos agrícolas mundiais vêm passando por grandes transformações, por meio dos avanços tecnológicos, resultando no incremento em produtividade, aliado a preservação ambiental, ao uso racional da água e a redução do uso de agroquímicos.

Neste sentido, a agricultura regenerativa passa a ser inserida nos processos produtivos, onde as culturas agrícolas são tratadas por meio de sistemas de cultivos, não de forma individualizada, mas integradas em processos claros, dinâmicos e interdependentes.

A cultura da soja, que no Brasil, ocupa mais de 40 milhões de hectares, tem de forma positiva participado fortemente nessa nova dinâmica produtiva. Sistemas de cultivo da soja como uma monocultura, seguindo tratamentos calendarizados, utilizando grandes quantidades de agroquímicos e dependentes de regularidade hídrica, estão com seus dias contados, haja visto que, os grandes desafios atuais, como por exemplo, a resistência de plantas daninhas à herbicidas, o surgimento de novas pragas e doenças, as reduzidas fontes de fertilizantes, as frequentes condições de estresse hídrico, bem como, a demanda mundial por uma agricultura mais ecológica e sustentável.

Na agricultura regenerativa o uso dos bioinsumos é um dos alicerces que vem auxiliando na obtenção de altas produtividades, sendo que, nos últimos anos o Brasil se tornou o maior produtor de soja e líder no mercado de bioinsumos.

A liderança em bioinsumos é devido aos altos investimentos da indústria, do registro crescente de novos produtos e de formulações mais eficientes e inovadoras, da descoberta de novos microrganismos, na combinação de microrganismos na mesma formulação, na síntese de metabólitos e na utilização de extratos vegetais.

A indústria de bioinsumos traz em sua essência, a inovação como regra, sendo que as equipes técnicas são compostas de mestres e doutores, e que em conjunto com a pesquisa pública, vem avançando em posicionamentos mais assertivos, compreendendo as modalidades de ação, as compatibilidades, as melhores condições ambientais para o sucesso na aplicação, visando atingir o alvo de interesse.

Adicionalmente, as pesquisas sobre a utilização de bioinsumos vem sendo geradas por meio de artigos científicos, mas muitas vezes, a publicação é de acesso restrito, dificultando o acesso de estudantes, técnicos, produtores e pesquisadores, além destas informações não estarem consolidadas no mesmo banco de dados.

Portanto, o livro **Bioinsumos na cultura da soja** surgiu da demanda de integrar as informações, onde os editores buscaram consolidar os principais assuntos relacionados ao tema. Desta forma, este livro está subdividido em cinco partes, sendo: I) cenários, desafios e inovações; II) tecnologia de aplicação; III) rizosfera e saúde do solo; IV) manejo de plantas daninhas e doenças e V) manejo de pragas.

Temos a clareza do dinamismo dos sistemas produtivos agrícolas e que as informações técnicas vêm sendo constantemente melhoradas e consolidadas, resultando no aperfeiçoando do conhecimento científico. Desta forma, ao lançar este livro disponibilizamos informações técnicas para a utilização correta dos bioinsumos na cultura da soja, além de ser estímulo para as futuras inovações e pesquisas, com o objetivo de contribuir para a implementação na agricultura regenerativa no Brasil.

PARTE I - CENÁRIOS, DESAFIOS E INOVAÇÕES

Capítulo 1	
Pesquisa, desenvolvimento e inovação com bioinsumos	21
Capítulo 2	
Mercado e perspectivas dos Bioinsumos no Brasil	39
Capítulo 3	
Contribuição do melhoramento genético da soja para o manejo de doenças e pragas	53
Capítulo 4	
Desafios na adoção de bioinsumos	75

PARTE II - TECNOLOGIA DE APLICAÇÃO

Capítulo 5	
Tratamento de sementes e sulco de semeadura	85
Capítulo 6	
Tecnologia de aplicação foliar de bioinsumos	107
Capítulo 7	
Tecnologia para liberação de agentes microbiológicos	127

PARTE III - RIZOSFERA E SAÚDE DO SOLO

Capítulo 8	
Fixação biológica do nitrogênio	141
Capítulo 9	
Microrganismos solubilizadores de fósforo e potássio na cultura da soja	163
Capítulo 10	
Inoculantes micorrízicos arbusculares para a cultura da soja	181
Capítulo 11	
Bactérias envolvidas na mitigação do estresse hídrico	199
Capítulo 12	
Solos supressivos a doenças	215
Capítulo 13	
Plantas de cobertura e saúde do solo	227
Capítulo 14	
Saúde do solo, tecnologia BioAS e a sustentabilidade agrícola	249
Capítulo 15	

Técnicas avançadas de biologia molecular no microbioma da soja.....	269
---------------------------------------------------------------------	-----

PARTE IV - MANEJO DE PLANTAS DANINHAS E DOENÇAS

Capítulo 16	
Controle biológico de plantas daninhas.....	285
Capítulo 17	
Manejo de doenças fungicas radiculares da soja.....	297
Capítulo 18	
Controle biológico de mofo-branco na cultura da soja.....	315
Capítulo 19	
Bioinsumos para o manejo de doenças foliares na cultura da soja.....	331
Capítulo 20	
Manejo biológico de nematoides.....	345

PARTE V - MANEJO DE PRAGAS

Capítulo 21	
Manejo de pragas com bactérias entomopatogênicas	361
Capítulo 22	
Manejo de pragas com vírus entomopatogênicos.....	377
Capítulo 23	
Manejo de pragas com fungos entomopatogênicos.....	401
Capítulo 24	
Manejo de pragas com parasitoides	417
Capítulo 25	
Manejo de pragas com artrópodes.....	435
Capítulo 26	
Manejo de pragas com nematoides entomopatogênicos.....	451
Capítulo 27	
Compatibilidades do uso de bioinsumos e insumos sintéticos no manejo da cultura da soja	473
Capítulo 28	
Controle de qualidade de produtos microbiológicos.....	493
Capítulo 29	
Controle de qualidade de produtos microbiológicos	507
Capítulo 30	
Inovações biotecnológicas para o manejo de pragas	535



PARTE I

CENÁRIOS, DESAFIOS

E INOVAÇÕES

Pesquisa, desenvolvimento e inovação com bioinsumos

Wagner Bettiol

Conceitos

O termo “bioinsumos” será utilizado neste capítulo considerando o conceito estabelecido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa, 2021), como sendo “o produto, o processo ou a tecnologia de origem vegetal, animal ou microbiana, destinado ao uso na produção, no armazenamento e no beneficiamento de produtos agropecuários, nos sistemas de produção aquáticos ou de florestas plantadas, que interfiram positivamente no crescimento, no desenvolvimento e no mecanismo de resposta de animais, de plantas, de microrganismos e de substâncias derivadas e que interajam com os produtos e os processos físico-químicos e biológicos”. Além deste termo, também serão empregados “bioprotetores” em referência aos agentes de controle biológico (organismos de ocorrência natural ou introduzido no ambiente para o controle de organismos ou suas atividades que causam danos às culturas) e “promotores de crescimento de plantas” que são os organismos diretamente relacionados com a promoção do crescimento de plantas que colaboram com o aumento da produtividade das culturas estando aqui englobados os termos inoculantes, bioestimulantes e biofertilizantes (Mapa, 2021).

Breve histórico do uso de bioinsumos no Brasil

Entre 1921 e 1944 foram realizadas diversas tentativas, sem sucesso, de importação e liberação de agentes de biocontrole de pragas no Brasil (Parra, 2014; Bueno et al., 2020). O primeiro projeto bem-sucedido foi a introdução em 1967 do parasitoide *Neodusmetia sangwani* para o controle da cochonilha das pastagens (*Antonina gramini*). Esse parasitoide se estabeleceu com sucesso no Brasil, tanto na região de introdução (Bahia), como em outras unidades da federação (Costa et al., 1970; Batista Filho et al., 2018; Gabriel, 2017). Outros exemplos de sucesso se sucederam, como o uso de parasitoides para o controle da broca da cana-de-açúcar que tem uma área superior a 5 milhões de hectares sob controle biológico (Bueno et al., 2020). No mercado brasileiro são disponíveis os seguintes organismos: *Cotesia flavipes*, *Cryptolaemus montrouzieri*, *Diachasmimorpha longicaudata*, *Deladenus siricidicola*, *Neoseiulus californicus*, *Orius insidiosus*, *Phytoseiulus macropilis*, *Stratiolaelaps scimitus*,

Steinernema puertoricense, *Trichogramma galloi*, *Trichogramma pretiosum* e *Trissolcus basalis* (Bueno et al., 2020; Mapa, 2022).

Em relação aos microrganismos como agente de biocontrole, *Metarhizium anisopliae* foi o primeiro fungo utilizado para o controle de pragas no Brasil (Alves; Lopes, 2008; Li et al., 2010; Bueno et al., 2020). Além deste, também *Verticillium lecanii*, *Hirsutella verticillioidea* e *Beauveria bassiana*, entre outros, foram estudados a partir de 1930 (Charles, 1937; Viegas, 1939; Li et al., 2010). Atualmente, no mercado brasileiro estão disponíveis as seguintes espécies de microrganismos para o controle de pragas: *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces fumosoroseus* e *Bacillus thuringiensis* (Bueno et al., 2020; Mapa, 2022).

Para o controle de doenças de plantas, o primeiro estudo publicado utilizando antagonistas foi com *Trichoderma* em 1950 (Bettiol et al., 2014), mas o primeiro sucesso veio com o controle da tristeza dos citros por meio da premunização com estirpes fracas do vírus da tristeza dos citros (Costa; Muller, 1980; Bettiol, 1996), as quais são utilizadas em larga escala na citricultura brasileira até a presente data. Atualmente, os principais antagonistas utilizados no Brasil para o controle de doenças de plantas são: *Aspergillus flavus*, *Clonostachys rosea*, *Paecilomyces lilacinus* (*Purpureocillium lilacinum*), *Pochonia chlamydosporia*, *Trichoderma asperellum*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningiopsis*, *Trichoderma stromaticum*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus firmus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus methilotrophicus*, *Bacillus pumilus* e *Bacillus subtilis* (Bettiol et al., 2019; Bueno et al., 2020; Mapa, 2022).

As áreas tratadas com esses organismos estão disponíveis em Bueno et al. (2020) indicando que o Brasil é o país sob a maior área tratada com agentes de biocontrole, atingindo mais de 50 milhões de hectares em 2021.

Breve histórico do uso de bioinsumos na cultura da soja

A cultura da soja seguramente é uma das principais responsáveis pelo crescimento do uso de bioinsumos no Brasil. Além do uso da fixação biológica de nitrogênio em larga escala, também o controle biológico de pragas e doenças é utilizado em grande escala na cultura (CropLife, 2021). Neste sentido, parte da história do uso de bioinsumos no Brasil se confunde com a história da cultura da soja no país. Possivelmente, os dois exemplos mais expressivos deste fato sejam a fixação biológica de nitrogênio e o controle biológico da lagarta da soja. Logicamente, não se pode menosprezar o controle biológico do mofo-branco na cultura com produtos à base de *Trichoderma* e de *Bacillus*. Nos parágrafos seguintes serão contextualizados os três exemplos, mas detalhes sobre fixação biológica de nitrogênio e controle do mofo-branco estão nos capítulos 8 e 18 deste livro.

Isolados do nucleopoliedrovírus da *Anticarsia gemmatilis* (AgMNPV) foi obtido no Brasil na década de 1970, e nos primórdios da década de 1980 a Embrapa Soja iniciou um amplo programa para o controle biológico de *Anticarsia gemmatilis*, a lagarta da soja, de grande importância como inseto que causa desfolha na soja (Moscardi et al., 1981; Sosa-Gómez et al., 2008). Desde as primeiras áreas demonstrativas, nas safras 1980-1981 e 1981-1982, conduzidas pela Embrapa Soja, foram verificadas reduções significativas nas populações de lagartas. A utilização do AgMNPV cresceu desde o seu início atingindo 1 milhão de hectares na safra 1989-90. Em seu início a produção do AgMNPV era totalmente artesanal sendo

o vírus pulverizado após maceração das lagartas recolhidas diretamente no campo. Posteriormente, foram desenvolvidas tecnologias que viabilizou a produção comercial do AgMNPV em condições de laboratórios. Detalhes do programa estão disponíveis em Moscardi (1989), Alves et al. (1998), Moscardi et al. (2002) e Sosa-Gómez et al. (2008). No momento, 4 produtos à base de Baculovírus Anticarsia estão registrados no Mapa (Mapa, 2022). Em notícia utilizando dados de 1997 (Embrapa Soja, 1997), verifica que com a utilização do Baculovírus Anticarsia em 1 milhão de hectares de soja, o Brasil deixou de aplicar cerca de 1,2 milhão de litros de inseticidas nas lavouras brasileiras. De acordo com a Embrapa Soja (2004), entre 1983 e 2004, mais de 20 milhões de litros de inseticidas químicos deixaram de ser aplicados nas regiões produtoras de soja que adotaram o método de controle biológico. Assim, há necessidade de se calcular o volume de inseticidas químicos que não foi aplicado com o uso desta tecnologia até 2022, com as vantagens econômicas, além das ambientais. Esses números evidenciam a importância da pesquisa e desenvolvimento do controle biológico para o Brasil.

Contudo, seguindo a história de sucesso do Baculovírus Anticarsia, também estão registrados produtos à base de Baculovírus Spodopetera frugiperda, Baculovírus Helicoverpa armigera, Baculovírus *Chrysodeixis includens* (Mapa, 2022), totalizando 10 produtos comerciais. O sucesso do uso de AgMNPV, que trouxe expressiva redução do uso de inseticidas químicos na cultura, com considerável ganho ambiental ao país, é devido principalmente à dedicação do Dr. Flávio Moscardi (1949 a 2012), da Embrapa Soja.

A fixação biológica de nitrogênio por meio de bactérias constitui o grupo mais importante de inoculantes. As espécies dos gêneros *Bradyrhizobium*, *Rhizobium* e *Azospirillum* são as mais utilizadas no país, sendo que para a cultura da soja são utilizadas a mistura de cepas de *Bradyrhizobium elkanii* e de *Bradyrhizobium japonicum* (Hungria et al., 2007) e, mais recentemente *Azospirillum brasilense* (Hungria et al., 2015; Prando et al., 2019; Santos et al., 2019; Santos et al., 2021). Além do menor custo para os agricultores pelo não uso de fertilizantes nitrogenados na soja (ver capítulo 8 deste livro), uma considerável redução nos impactos ambientais que o uso de N-mineral causaria também precisa ser considerada, principalmente quando se analisa os dados de Rockström et al. (2009). Essa informação é de extrema significância considerando a área cultivada pela soja na safra 2021/2022 de, aproximadamente 40,6 milhões de ha (Conab, 2022).

A adoção do uso de inoculantes na cultura da soja no Brasil na safra 2020/2021 foi de 80%, enquanto a adoção da co-inoculação *Bradyrhizobium* + *Azospirillum* foi de 26% (Globalfert, 2021; Spark, 2021). Esses números representam, para a safra 2020/2021, uma área de 30,821 milhões de ha de soja sob uso de inoculantes e de 10,017 milhões sob co-inoculação, num total de 38,526 milhões de ha, indicando o sucesso da tecnologia desenvolvida no Brasil. Considerando a área cultivada na safra 2020/2021 a economia foi superior a US\$17,8 bilhões (ver cálculo no capítulo 8). Esses dados claramente mostram não somente a importância do uso de inoculante na cultura da soja, mas a importância da pesquisa e desenvolvimento de bioinsumos para o país.

Essas bactérias, que para muitas plantas substitui a utilização de fertilizantes nitrogenados, representa uma tecnologia limpa e sustentável de grande importância principalmente para a cultura da soja no Brasil, pois bactérias do gênero *Bradyrhizobium* podem fixar até 300 kg/ha (Mendes et al., 2010). Contudo, também *Azospirillum amazonense*, *Azospirillum halopraeferans*, *Azospirillum*

lipoferum, *Herbaspirillum seropedicae*, *Acetobacter diazotrophicus* e outras (Döbereiner, 1990) são reconhecidamente fixadoras de nitrogênio.

Detalhes sobre a história do desenvolvimento da fixação biológica de nitrogênio no Brasil são apresentados de forma brilhante por Solon Cordeiro de Araujo em seu livro “Caminhos, escolhas e conquistas” publicado pela Associação Nacional dos Produtores e Importadores de Inoculantes (ANPII) (Araujo, 2017). Neste livro o autor relata a sua história vivida desde os tempos de graduação na Escola de Agronomia Eliseu Maciel, da então Universidade Rural do Sul, atual Universidade Federal de Pelotas, sua convivência com os principais atores deste fantástico mundo dos inoculantes desde 1963.

Conceitos de controle biológico

“O uso de um organismo para reduzir a densidade populacional de outro organismo” é o conceito geral de controle biológico e pode ser aplicado para as diferentes áreas. O controle biológico é utilizado de forma efetiva para controlar problemas sanitários (doenças, pragas e plantas invasoras) na agricultura e na veterinária e de saúde pública. O controle biológico natural, o conservacionista, o clássico e o aumentativo são os tipos conhecidos. Neste capítulo serão apenas abordados aspectos do uso agrícola do controle biológico.

No controle biológico natural de pragas e doenças agrícolas as populações desses organismos são mantidas em equilíbrio por ação de antagonistas e inimigos naturais de ocorrência natural, sem qualquer intervenção humana. No controle biológico conservacionista as ações humanas são para proteger e estimular a preservação e aumentar naturalmente as populações de agentes benéficos. O controle biológico clássico é baseado na coleta de inimigos naturais em uma área de exploração, geralmente a área de origem da praga, patógeno ou planta invasora, e liberação em áreas onde se deseja elevar o número de agentes de biocontrole, podendo resultar em população permanente. Controle biológico aumentativo é aquele em que os antagonistas, os entomopatógenos, os parasitoides e os predadores são aplicados de forma massal em uma cultura. O controle biológico aumentativo é o mais conhecido entre os agricultores, pois tem como base a aplicação de um agente de biocontrole (fungos, bactérias, oomicetos, vírus, micovírus, bacteriófagos, predadores e parasitoides) disponíveis no mercado (Bettiol, 2021). Detalhes dos conceitos e tipos de controle biológico podem ser obtidos em Baker & Cook (1974), Cook; Baker (1983), Bettiol (1991), van Lenteren et al. (2020).

Fases do controle biológico no Brasil

Diversos autores, como Bettiol (1991), Alves; Lopes (2008), Parra (2014), Bettiol et al. (2014) e Bueno et al. (2020) apresentam informações sobre as diversas fases do controle biológico no Brasil. Assim, aqui, apenas um breve resumo é apresentado na Figura 1 para contextualizar o leitor de alguns fatos importantes.

Desta forma, foram consideradas quatro fases, sendo a primeira antes de 2005 quando os agentes de controle biológico, exceto *Bacillus thuringiensis*, eram comercializados sem registro e uma produção, de modo geral, que pode ser considerada como on-farm ou caseira.

Na segunda fase entre 2005 e 2014 o Brasil viveu um momento efervescente no desenvolvimento do controle biológico, sendo a fase em que os primeiros produtos à base de fungos foram registrados para o controle de pragas e doenças; importantes alterações foram consolidadas no processo de registro dos produtos biológicos culminando no aumento de produtos registrados e na criação de novas empresas; a criação da Associação Brasileira das Empresas de Controle Biológico (ABCBio), que hoje está dentro da CropLife; ampla discussão sobre produtos à base de *Metharizium*, *Beauveria*, *Trichoderma* e *Bacillus* se iniciou no país; e outros fatos marcantes também ocorreram nesta fase. Neste período ocorreu a explosão da ocorrência de *Helicoverpa armigera* no país e, devido aos problemas causados, deu início à produção on-farm ou caseira de *Bacillus thuringiensis* na tentativa de suprir a falta de produtos. Esse fato marca o final desta fase.

Na terceira fase, entre 2014 e 2022, ocorre a consolidação do controle biológico no país com forte aumento no número de empresas e de produtos registrados, ambos graças às alterações que ocorreram na segunda fase. O forte crescimento do mercado impulsionou políticas como a criação dos programas Bioinsumos pelo MAPA, para estimular o desenvolvimento e uso desta tecnologia.

Na fase que iniciamos em 2022 a expectativa é muito grande com o crescimento do mercado e, conseqüentemente, no número de produtos registrados e empresas. Esse crescimento demandará a elaboração de novos critérios de registro, além da regulamentação da produção on-farm ou caseira. Importante também será a disponibilização no mercado de bioherbicidas, pois são limitadas as opções alternativas aos herbicidas químicos. Uma clara tendência do mercado é o lançamento de produtos contendo mistura de agentes de controle biológico. Outro fato importante será a disponibilização de produtos baseados nos conhecimentos dos microbiomas do solo, da rizosfera e da planta, como por exemplo os prebióticos para estimular membros específicos da comunidade microbiana residente nesses ambientes (Bettiol et al., 2022). Também, o conhecimento do microbioma, permitirá a manipulação das plantas para estimular determinados grupos de organismos beneficiando o controle biológico conservacionista. No capítulo 15 do presente livro este tema é amplamente discutido.

Em relação ao mercado brasileiro, dados da CropLife (2021) mostram que o mercado nacional em 2021 foi de R\$ 1,8 bilhão, representando um crescimento de 33% em relação ao ano de 2020. Destaque deste mercado para os bionematicidas que ocupam o primeiro lugar no mercado de bioprotetores no país. Também é significativo o crescimento do mercado mundial, sendo que as previsões da taxa composta anual de crescimento (CAGR - compound annual growth rate) de 14,7% até 2025, de acordo com a Markets and Markets (2020), para os produtos biológicos (bioprotetores, inoculantes, bioestimulantes e biofertilizantes), atingindo valor de US\$8,5 bilhões de dólares. Também para o mesmo segmento, a Dunham Trimmer (2021) prevê, para o período de 2015 a 2027, uma CAGR de 14,4%. Contudo, esse crescimento dependerá do desenvolvimento de novos agentes de controle biológico a serem lançados no mercado, como é o caso de bioherbicidas. Os bioherbicidas serão de grande importância quando se analisa o crescimento de bioprotetores no mercado brasileiro, pois a área cultivada com grão, e atualmente dependente de herbicidas químicos, é consideravelmente grande.

No Brasil, o tamanho do mercado de bioprotetores é relativamente maior do que o estimado de R\$1,3 bilhão, pois nesse cálculo não foi considerada a produção caseira ou on-farm que ocupa uma área significativa nas culturas da soja, da cana-de-açúcar e do algodão. Contudo, são dados não disponíveis.

FASES DO CONTROLE BIOLÓGICO NO BRASIL

Fase 1 - Antes de 2005	Fase 2 - 2005 a 2014	Fase 3 - 2014 a 2022	Fase 4 - Pós 2022
<ul style="list-style-type: none"> - Produção exclusivamente on farm ou caseira <i>Metarhizium anisopliae</i> <i>Beauveria bassiana</i> <i>Trichoderma</i> spp. <i>Trichoderma stromaticum</i> <i>Dycima pulvinata</i> <i>Acremonium</i> <i>Clonostachys</i> <i>Cotesia flavipes</i> - Produtos comercializados sem registro, exceto <i>Bacillus thuringiensis</i> (não está sendo considerado o controle biológico clássico) 	<ul style="list-style-type: none"> - Primeiro ABC registrado - Criação da ABCBio - Crescimento no número de produtos registrados - Novas empresa - Mudança nos processos de registro - Crescimento de vendas de produtos à base de <i>Beauveria</i>, <i>Bacillus</i>, <i>Metarhizium</i>, <i>Trichoderma</i>, <i>Cotesia</i>, etc. - Explosão da <i>Helicoverpa armigera</i> - Início da produção on farm de <i>Bacillus thuringiensis</i> para controle de <i>H. armigera</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - Consolidação do controle biológico - Crescimento no número de empresas - Crescimento no número de produtos registrados - Crescimento da produção on farm de <i>Bacillus</i> spp., <i>Trichoderma</i>, <i>Beauveria</i>, <i>Metarhizium</i>, etc. - Programa de Bioinsumos do MAPA - Forte crescimento do mercado 	<ul style="list-style-type: none"> - Consolidação das empresas - Novas empresas serão criadas - Aumento da oferta de ingredientes ativos - Aumento da oferta de produtos - Mistura de bioagentes - Produtos com novas tecnologias - Crescimento do mercado - Mudanças no processo de registros - Regulamentação da produção on farm - Bioherbicidas - Prebióticos - Manipulação do microbioma

Figura 1. Fases do controle biológico no Brasil. ABC = agente de controle biológico. ABCBio = Associação Brasileira das Empresas de Controle Biológico.

Seleção de agentes de biocontrole para o desenvolvimento de bioinsumos.

Tal como no desenvolvimento de pesticidas químicos onde milhares de moléculas são avaliadas, também para o desenvolvimento de um agente de controle biológico há necessidade de se realizar o isolamento e a seleção dos bioagentes. Contudo, também há necessidade de considerar outros aspectos durante todo o processo. Köhl et al. (2011) propuseram um sistema de passo a passo para a seleção de antagonistas para o controle de doenças de plantas. Nesse sistema, vários aspectos do agente de biocontrole são considerados para obter um agente de biocontrole de sucesso para o mercado. Esses autores organizaram o sistema de seleção em nove passos: 1 - avaliação da cultura alvo, da doença e do mercado; 2 - origem e isolamento dos candidatos a antagonistas; 3 - seleção rápida; 4 - consulta aos bancos de dados; 5- ensaios para testar a eficácia dos organismos; 6 - avaliação preliminar da produção massal; 7 - formulação piloto e custos de registros; 8 - aumento da escala da produção massal e estudos em condições de campo; e 9 - integração no sistema de cultivo. Para cada uma desses passos são sugeridas as características para manter ou excluir o organismo do processo, considerando principalmente as condições de países de clima temperado. Além disso, os autores também consideraram os custos envolvidos. Bettiol et al. (2021) rediscutem esse sistema considerando os aspectos relacionados com a agricultura de países tropicais, bem como a seleção de antagonistas para nichos de mercado e a seleção considerando os aspectos regionais de uso dos bioagentes. A combinação de métodos includentes e excludentes é abordada por Köhl et al. (2011) e Bettiol et al. (2021). A relevância da doença em termos de perdas e da cultura, bem como a importância regional ou para algum nicho específico deve ser considerada nos estudos da primeira etapa do desenvolvimento de um produto biológico.

Os métodos de isolamento e seleção de antagonistas são relativamente bem conhecidos e descritos em abundância na literatura, contudo é importante considerar, dependendo do mercado visado, o local de onde será realizado o isolamento dos organismos, por exemplo, se se visa desenvolver um produto para as condições do semiárido brasileiro a recomendação é de que o isolamento dos organismos seja desse ambiente. Atualmente, com as ferramentas que permitem a identificação via molecular com custos baixos, de grande parte dos microrganismos, o passo 4 é fundamental no processo, pois com a identificação dos potenciais bioagentes se pode verificar, na literatura, quais são as possíveis características benéficas (facilidade de multiplicação ou produção de compostos, por exemplo) ou prejudiciais (patógenos humanos, por exemplo) do organismo, permitindo a sua exclusão ou inclusão com maior segurança. Muitas vezes são negligenciados os aspectos de multiplicação massal e formulação dos potenciais bioagentes, contudo esses dois aspectos são fundamentais nos processos excludentes e includentes de desenvolvimento de um produto biológico. Fundamental é o passo de integração do novo agente de biocontrole no sistema de cultivo. Para a cultura da soja, o sucesso do controle biológico do mofo-branco, causado por *Sclerotinia sclerotiorum*, por *Trichoderma* e *Bacillus*, ilustra muito bem a necessidade da integração dos antagonistas no sistema de cultivo, pois de acordo com as informações do capítulo 18 e de Bettiol et al. (2021) a eficiência está relacionada não somente com a aplicação desses antagonistas diretamente na cultura, mas também nas culturas subsequentes que não são hospedeiros do patógeno ou são menos susceptíveis (detalhes no capítulo 18). Esse modelo de integração poderá colaborar com o sucesso do controle biológico em outros patossistemas.

Com uma seleção coordenada as chances de sucesso são aumentadas e o prazo para lançamento de um bioagente no mercado será reduzido, consequentemente com menores custos e com vantagens para toda a cadeia do agronegócio. Para tanto, uma equipe multidisciplinar deve estar envolvida no desenvolvimento de produtos.

Agentes não tradicionais de biocontrole de doenças e pragas para o desenvolvimento de bioinsumos

Em um programa de isolamento e seleção de agentes bioprotetores contra fitopatógenos e insetos pragas os agentes não tradicionais raramente são considerados ou mesmo analisados no processo de desenvolvimento de produtos. No entanto, nos últimos anos o potencial de antagonistas como *Trichoderma* e *Clonostachys* no controle de insetos pragas vêm sendo demonstrado (Chinnaperumal et al., 2018; Contreras-Cornejo et al., 2020; Mascarin et al., 2022). Também o potencial de fungos entomopatogênicos dos gêneros *Beauveria* e *Metarhizium* e da bactéria *Bacillus thuringiensis* tem sido demonstrado para o controle de doenças de plantas e para a promoção do crescimento de plantas (Martins, 1991; Ownley et al., 2008; Sasan; Bidochka, 2012; Ravindran et al., 2014; Qi et al., 2016; Liu et al., 2017; Sarven et al., 2020; Tomilova et al., 2020; Bettiol et al., 2021). Assim, se faz necessário avaliar o potencial dos produtos disponíveis no mercado à base destes organismos no controle biológico de outros organismos que causam problemas fitossanitários para a extensão de uso destes bioinsumos. Os relatos de *Lecanicillium lecanii* (*Verticillium lecanii*) controlando pragas e doenças de plantas é antigo (Viegas, 1939; Eskes et al. 1991; Haddad et al, 2009). Contudo, para que esse bioagente seja utilizado há necessidade de estudos para

viabilizar a sua produção em larga escala, bem como desenvolver formulações que permitam maior sobrevivência nas condições ecológicas de uso.

O controle do oídio da videira, causado por *Erysiphe necator*, pelo ácaro micófago *Orthotydeus lambi*, e da ferrugem do cafeeiro, causada por *Hemileia vastatrix*, pelo ácaro *Ricoseius loxochel* foram relatados por English-Loeb et al. (2007) e Oliveira et al. (2014), respectivamente. A criação destes organismos em laboratório será fundamental para que ambos apresentem alguma chance de serem utilizados na prática para controlar estas doenças. Além disso, os pesticidas químicos utilizados nas culturas não poderão ser prejudiciais a esses ácaros. Considerando que diversos ácaros são comercializados para o controle biológico de pragas (van Lenteren et al., 2018) é importante considerar que esse grupo de organismos também poderá ser utilizado no controle de doenças de plantas, num programa de manejo integrado, pois são organismos sensíveis a diversos pesticidas químicos.

Os bacteriófagos são um grupo de vírus que infectam e matam apenas bactérias específicas sem quaisquer efeitos negativos nas células humanas ou animais (Jones et al., 2012; Principi et al., 2019; Vu; Oh, 2020), podendo ser uma alternativa para o controle de doenças de plantas causadas por bactérias (Jones et al. 2012; Buttimer et al., 2017; Harada et al., 2018; Vu; Oh, 2020). Contudo, o seu uso ainda é extremamente limitado no mundo, necessitando de seleção e estratégias de aplicação adequadas, associadas ao desenvolvimento de formulações (Jones et al., 2012; García et al., 2019; Vu; Oh, 2020). AgriPhage - CMM utilizado para o controle do cancro bacteriano do tomateiro (*Clavibacter michiganensis* pv *michiganensis*), AgriPhage - Fire Blight para o controle do fogo bacteriano (*Erwinia amylovora*) da macieira e da pereira, AgriPhage - Citrus canker para o controle do cancro dos citros (*Xanthomonas citri* pv *citri*) e AgriPhage XCV e PST para o controle das manchas bacterianas do tomateiro e pimentão (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*) e do tomateiro (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) são, entre outros, exemplos de bacteriófagos agentes de biocontrole extremamente seletivos disponíveis no mercado (Jones et al., 2012; Buttimer et al., 2017; Harada et al., 2018; García et al., 2019).

Os micovírus, vírus de fungos, passaram a receber atenção como uma ferramenta potencial para o controle biológico de patógenos de plantas (Picarelli et al., 2017; Wang et al., 2017; García-Pedrajas et al., 2019). *Cryphonectria parasitica* hypovirus 1 (CHV1) foi o primeiro micovírus utilizado como agente de biocontrole para o controle do crestamento do castanheiro causado por *Cryphonectria parasitica* (Heiniger; Rigling, 1994). Os micovírus estão associados à indução da supressão de um grande número de fungos fitopatogênicos causando hipovirulência. Vários micovírus são responsáveis por essa supressão, como: CHV1, CHV2 e CHV3 em *Cryphonectria parasitica*; HetRVP em *Heterobasidion annosum*; SsHV1, SsHV2, SsDRV, SsBRV2, SsHADV1 e SsPV1 em *Sclerotinia sclerotiorum*; SmEV1 em *Sclerotonia minor*; RsEV1 e RsPV2 em *Rhizoctonia solani*; FgHV2 e FgV-ch9 em *Fusarium graminearum*; FodV1 em *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*; Fsv1 em *Fusarium solani*; VdCV1 em *Verticillium dahliae*; RnMBV1 e RnMBV2 em *Roselinia necatrix*; BcMV1 e BcPV2 em *Botrytis cinerea*; BpRV1 em *Botrytis porri*; AsHV1 em *Alternaria alternata*; BdcV1 em *Botryosphaeria dothidea*; MoCV1-A em *Magnaporthe oryzae*; e EcEV em *Erysiphe cichoracearum* entre outros (Yu et al., 2013; Picarelli et al., 2017; Wang et al., 2017; García-Pedrajas et al., 2019; Lemus-Minor et al., 2019). O primeiro passo para o desenvolvimento é a identificação do micovírus que infecta o patógeno a ser controlado com a produção de cepas isogênicas infectadas e

livres de vírus. A segunda etapa é a análise do potencial de micovírus indutor de hipovirulência para se disseminar eficientemente nas populações de patógenos. A terceira etapa é a manipulação molecular de micovírus e/ou seus hospedeiros para aumentar seu potencial de controle biológico e a quarta etapa é o desenvolvimento de formulações de biocontrole e métodos de implantação (García-Pedrajas et al., 2019)

Engenheirando o microbioma para o controle de doenças

A diversidade microbiana existente no solo, na rizosfera e na planta de forma geral está sendo caracterizada com as novas ferramentas moleculares disponíveis. Assim, a exploração desse conhecimento será fundamental para o desenvolvimento do controle biológico, não somente utilizando um ou poucos microrganismos como vem sendo realizado, mas sim manipulando e engenheirando o microbioma para uso de comunidades complexas de microrganismos para favorecer o desenvolvimento das plantas e o manejo da saúde das plantas (Bettiol et al., 2021). Inicialmente, possivelmente, será visando ao controle de fitopatógenos habitantes do solo por indução da supressividade do solo e na promoção do crescimento de plantas (Mendes et al., 2011). Esforços de um grande número de especialistas serão necessários para se tornar realidade esse potencial. Nesse sentido, há necessidade de entender os papéis do microbioma na defesa e na promoção de crescimento das plantas permitindo engenheirar os microbiomas do solo e do hospedeiro que beneficiem a saúde das plantas.

Algumas propostas de como engenheirar o microbioma para o controle de doenças de plantas são apresentadas em Bettiol et al. (2021): 1 - melhoramento de planta para beneficiar o microbioma por meio alterações no metabolismo das plantas; 2 - manejo dos sistemas de cultivo que aumente as comunidades microbianas benéficas; 3 - exploração da supressividade do solo a fitopatógenos habitantes do solo por meio de consórcios microbianos específicos; 4 - uso de prebióticos que adicionados ao solo estimulem membros específicos da comunidade microbiana residente; e 5 - comunidade microbiana sintética combinando as abordagens tradicionais e de microbioma desenvolvendo um consórcio microbiano (Ahkami et al. 2017; Chapelle et al., 2016; Mendes et al., 2011; Mendes et al., 2018; Niu et al., 2017; Bettiol et al., 2021).

Contudo, ainda há necessidade de um amplo desenvolvimento de pesquisas com a finalidade de conhecer as comunidades microbianas associadas com as culturas; desenvolver métodos para analisar os dados dos microbiomas e interpretar os resultados; isolar os microrganismos com as funções desejadas, elucidar os mecanismos envolvidos nas complexas interações da doença (Chiaromonte et al., 2021) e desenvolver estratégias para projetar o microbioma que promova a saúde das plantas.

Uso eficiente de Nitrogênio

A agricultura moderna é uma das causas da poluição ambiental, incluindo a contaminação devido ao uso de pesticidas e fertilizantes, aos desequilíbrios biológicos devido à uniformidade de cultivos, a degradação dos solos devido ao seu manejo inadequado, ao uso inadequado da água e também devido às mudanças ambientais induzidas por alterações no ciclo do nitrogênio e do fósforo devido à aplicação desses nutrientes em grandes quantidades (Rockström et al., 2009). O uso, em grande escala, de nitrogênio na agricultura precisa ser reduzido para evitar consequências desastrosas para a humanidade devido à

interferência do homem no seu ciclo cujo limite planetário já foi ultrapassado dentro dos processos considerados vitais do sistema na terra (Rockström et al., 2009). A utilização de microrganismos para reduzir o uso de nitrogênio na agricultura vem apresentando enorme sucesso com a aplicação de *Bradyrhizobium* e de *Azospirillum*, contudo também outros microrganismos poderiam ser utilizados para reduzir as quantidades de fertilizantes nitrogenados usadas na agricultura. De acordo com Harman (2000, 2011) e Monte et al. (2019), *Trichoderma* é mais do que um agente de biocontrole, podendo, o *Trichoderma* colaborar na redução das quantidades de fertilizantes nitrogenados usados sem redução no rendimento das culturas. Também as bactérias promotoras de crescimento, como espécies do gênero *Bacillus*, possuem papel importante para melhorar a eficiência no uso de nitrogênio visando a sustentabilidade da produção agrícola (Di Benedetto et al., 2016; Di Benedetto et al., 2017; Sun et al., 2020).

Bioherbicidas

A área cultivada com soja na safra 2021/2022 foi de 40,587 milhões de ha (Conab, 2022) e não há disponibilidade de bioherbicidas para controle das plantas invasoras no mercado. Significativas também são as áreas cultivadas com milho (21 milhões de ha), cana-de-açúcar (8,3 milhões de ha), arroz (1,6 milhões de ha) e trigo (2,7 milhões de ha) (Conab, 2021; Conab, 2022), com uso exclusivo de herbicidas químicos para o controle das plantas invasoras. Assim, o controle de plantas invasoras nessas culturas é realizado, em quase toda a totalidade da área, exclusivamente com herbicidas químicos. Desta forma, é crucial o desenvolvimento de bioherbicidas para disponibilizar para os agricultores mais uma ferramenta para o manejo das plantas daninhas, o que representará um significativo avanço na redução dos impactos ambientais causados com o controle deste problema fitossanitário. Além disso, com o lançamento de bioherbicidas no mercado ocorrerá um salto na comercialização dos bioprotetores em todo o mundo, mas principalmente nos países produtores de grãos como o Brasil e outros. Esse grupo de produtos é fundamental para o crescimento do mercado mundial de biopesticidas, contudo ainda serão necessários alguns anos para a disponibilização desses produtos no mercado.

Micorrizas

Existe um grande número de interação entre fungos e plantas, contudo dentre elas é importante destacar as micorrizas, que são associações entre fungos e raízes de plantas. Informações detalhadas sobre a importância, tipos, ocorrência, classificação, processos de interação, benefícios para as plantas e para os fungos, fatores que interferem na micorrização, etc. estão disponíveis em Moreira; Siqueira (2002), Silveira (1992) e Bellei; Carvalho (1992). As micorrizas são tão frequentes que plantas não micorrizadas são exceções na natureza. Apesar da importância é insignificante o uso no Brasil. Contudo, justamente devido à sua importância, num curto espaço de tempo, serão disponibilizados produtos à base de fungos micorrízicos, pois essa associação tem efeitos sobre o crescimento das plantas, a absorção de nutrientes e no controle de doenças de plantas entre outros, além de aumentar a tolerância das plantas a estresses abióticos. Apesar da importância desta associação, não existe uma política nacional para estimular o uso de micorrizas, havendo necessidade de investir em pesquisa para o desenvolvimento de produtos. Detalhes sobre inoculantes micorrízicos arbusculares para a cultura da soja são discutidos no capítulo 10 deste livro.

Produção on-farm ou caseira de agentes de controle biológico

Apesar do consenso de que a produção on-farm ou caseira de agentes de controle biológico é invenção recente da agricultura brasileira, a produção caseira ocorreu livremente até o final de 2005, ano em que os primeiros produtos biológicos, exceto *Bacillus thuringiensis*, foram registrados no país. Assim, diversas empresas, agricultores e laboratórios realizavam a multiplicação de antagonistas, entomopatógenos, predadores e parasitoides diretamente na propriedade. Portanto, produção on-farm ou caseira. Contudo, o crescimento foi acentuado com o advento da *Helicoverpa armigera* e a falta de inseticidas para o seu controle no ano de 2013, quando agricultores iniciaram a multiplicação de *Bacillus thuringiensis* via fermentação líquida. Atualmente, se realiza a produção caseira de *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* e *Bacillus amiloliquefaciens*, entre outros, via fermentação líquida e, de *Trichoderma* spp., *Beauveria bassiana*, *Metharizium* e *Pochonia* via fermentação sólida e também líquida. Apesar do grande número de discussões sobre a legalidade da atividade, o Decreto 6.913, de 23/07/2009, em seu Art. 10-D, parágrafo 8 indicava que: “ficam isentos de registro os produtos fitossanitários com uso aprovado para a agricultura orgânica produzidos exclusivamente para uso próprio”. Este parágrafo foi ampliado no Decreto 10.833 de 08/10/2021 para “Ficam isentos de registro os produtos fitossanitários com uso aprovado para a agricultura orgânica e convencional produzidos exclusivamente para uso próprio”. Contudo, falta regulamentações claras para a atividade. Este não é o espaço para as discussões da produção caseira ou on-farm, mas não se pode ignorar o fato de que considerável área da produção de soja, cana-de-açúcar e algodão, entre outras culturas, utilizam desta tecnologia em grandes áreas. Também vem ocorrendo a produção on-farm ou caseira de inoculantes como *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*.

Bioinsumos para mitigar o estresse salino e hídrico

A produção agrícola é negativamente afetada pela salinização do solo (Munns; Tester, 2008; Orozco-Mosqueda et al., 2019) e a taxa de salinização do solo está, anualmente, sendo expandida, causando problemas na produção de alimentos em vários países. A redução do crescimento e da produtividade em solos salinizados são devidos aos efeitos negativos nas propriedades biológicas, físicas e químicas do solo, na fotossíntese, na absorção de nutrientes, na transpiração, na regulação dos hormônios e na síntese de proteínas (Ilangumaran; Smith, 2017; Rubio et al., 2017; Orozco-Mosqueda et al., 2019).

Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas, como *Bacillus* spp. e *Pseudomonas* spp., e agentes de biocontrole, como *Trichoderma* spp. e *Bacillus* spp., tem colaborado no aumento da tolerância das plantas aos estresses abióticos, como o estresse salino, e promovido o crescimento das plantas cultivadas nessas condições (Olanrewaju et al. 2017; Rubio et al., 2017; Abd-Allah et al. 2018; Numan et al. 2018; Rabbee et al. 2019; Medeiros; Bettiol, 2021). Esses organismos, além da eficiência em mitigar os efeitos da salinização, também são considerados GRAS (geralmente reconhecidos como seguros) e estão presentes em um grande número de ambientes.

O capítulo 11 deste livro apresenta ampla discussão sobre bactérias envolvida na mitigação do estresse hídrico.

Considerações Finais

Todos os estudos mostram um futuro brilhante do controle biológico no Brasil, inclusive sendo o título do livro de van Lenteren et al. (2020) “Biological control in Latin America and the Caribbean: its rich history and bright future” em tradução livre “Controle biológico na América Latina e Caribe: sua rica história e um futuro brilhante”, no qual é mostrado que o Brasil é o país com a maior área sob controle biológico no mundo. Contudo, para que isso realmente ocorra há necessidade de investimento em pesquisa e desenvolvimento de produtos, cujos recursos vêm sendo limitados.

O mercado brasileiro de pesticidas apresentou um movimento de cerca de US\$ 13,7 bilhões em 2019, sendo que a soja aparece no levantamento com 49% de participação, isto é US\$ 6,7 bilhões (AENDA, 2020). Dados da CropLife (2021) mostram que o mercado nacional em 2021, de produtos biológicos, foi de R\$ 1,8 bilhão, representando um crescimento de 33% em relação ao ano de 2020, sendo que a soja também aparece no levantamento com destaque para os bioprodutos, ocupando 46% do mercado. Considerando o total de venda de pesticidas no Brasil, ainda os bioprotetores representam uma quantidade pequena do mercado, contudo as estimativas são que o crescimento continue forte, como os 42% entre 2019 e 2020 e 33% entre 2020 e 2021 (CropLife, 2021). O crescimento do mercado de bioprotetores poderia ser maior no Brasil se fossem lançados bioherbicidas, pois a área sob uso de herbicidas químicos é quase na totalidade de grãos produzidos. Outro fator importante a ser considerado é que nesses números não são considerados os valores advindos da produção caseira ou on-farm de bioagentes.

Alguns entraves para o crescimento do mercado, dentre outros, merecem lembrança, como: aumento da degradação dos solos; conhecimento relativamente pequeno por parte dos produtores e dos engenheiros agrônomos sobre controle biológico; formação inadequada dos engenheiros agrônomos e engenheiros florestais para compreender a estrutura e o funcionamento dos agroecossistemas e conseqüentemente do manejo das culturas; recursos limitados para pesquisa; apesar de termos uma das melhores legislações para registro de produtos biológicos, há necessidade de avanço para reduzir custos e tempo de registro desse grupo de produtos.

Muitos dos aspectos que podem ser considerados entraves para o controle biológico, também podem ser considerados como oportunidades de crescimento, como por exemplo o aumento de degradação dos solos, pois se discute a implantação da agricultura regenerativa e também que o uso de microrganismos é uma forma de reverter esse quadro. Assim, aumenta o número de agricultores que estão investindo para melhorar a qualidade do solo e, conseqüentemente a vida do solo, o que vai beneficiar o controle biológico de pragas e doenças. Outro aspecto que os agricultores estão considerando neste investimento são os efeitos das mudanças climáticas que estão alterando os regimes de chuvas e com isso há necessidade de recuperação de áreas para minimizar o aumento da temperatura e a falta de água. Sem dúvida, minimizando o aumento da temperatura e a falta de água na área ocorrerá um estímulo ao controle biológico e a eficiência dos mesmos será aumentada.

Com o menor custo para o desenvolvimento de produtos contendo agentes de controle biológico do que para o desenvolvimento de produtos químicos, bem como com as limitações para uso de pesticidas químicos, possivelmente o número de produtos biológicos que será lançado no mercado sentirá um grande crescimento nos próximos anos. Contudo, há necessidade de que as empresas desenvolvam novos

princípios ativos, isto é, selecionem novos agentes de controle biológico. Dentre os novos princípios ativos biológicos, se faz necessário o desenvolvimento urgente de bioherbicidas para fornecer alternativas aos agricultores no manejo de plantas invasoras, bem como produtos para o controle das ferrugens da soja e do cafeeiro, importantes mercados de fungicidas químicos.

Os inoculantes, cada vez mais, desempenharão a tremenda importância para a agricultura brasileira que possuem, necessitando de desenvolvimento de novos organismos-inoculantes para disponibilizar aos agricultores no sentido de redução do uso de fertilizantes à base de nitrogênio e fósforo.

Crescimento do mercado de promotores de crescimento das plantas e mitigadores de estresses abióticos também será considerável num curto espaço de tempo, pois esses organismos colaborarão com a redução do uso de fertilizantes e redução de perdas devido aos estresses hídricos e salinos dos solos.

O desenvolvimento de bioprotetores, bioestimulantes e inoculantes será intensificado devido à exigência do mercado, mas também devido à disponibilidade de profissionais no mercado com qualificação em controle biológico, pois diversos cursos de pós-graduação nas áreas de entomologia e fitopatologia tem em seus programas disciplinas de controle biológico.

A convivência harmoniosa entre o uso de produtos biológicos comercializados com registro junto aos órgãos competentes e a produção caseira ou on-farm será importante, pois existe mercado para ambas as atividades. Inclusive com o crescimento da indústria da produção caseira, possivelmente serão disponibilizados pelo mercado inóculos dos agentes de biocontrole criando uma nova categoria de produto. Contudo, é indispensável uma regulamentação urgente da cadeia de produção caseira ou on-farm para aumentar a qualidade dos produtos dando maior segurança aos agricultores e aos consumidores. Com isso, novas oportunidades de negócios serão criadas, bem como novas oportunidades de emprego para profissionais capacitados nos diversos elos da cadeia da produção caseira.

Finalmente, a disponibilização de produtos baseados nos conhecimentos dos microbiomas do solo, da rizosfera e da planta, como por exemplo os prebióticos para estimular membros específicos da comunidade microbiana residente nesses ambientes é necessária. Também, o conhecimento da diversidade e funcionalidade dos microbiomas do solo e das plantas permitirá a manipulação das plantas para estimular determinados grupos de organismos beneficiando o controle biológico conservacionista. Serviços, portanto, deverão ser criados, para manipular e engenheirar o microbioma para uso de comunidades complexas de microrganismos para favorecer o desenvolvimento das plantas e o manejo da saúde das plantas. Portanto, esforços de um grande número de especialistas serão necessários para se tornar realidade esse potencial. Com tudo isso, com certeza será brilhante o uso de bioinsumos no Brasil.

Referências

ABD-ALLAH, E. F.; ALQARAWI, A. A.; HASHEM, A.; RADHAKRISHNAN, R.; AL-HUQAIL, A. A.; AL-OTIBI, F. O. N.; MALIK, J. A.; ALHARBI, R. I. Endophytic bacterium *Bacillus subtilis* (BERA 71) improves salt tolerance in chickpea plants by regulating the plant defense mechanisms. *Journal of Plant Interaction* v.13, p.37-44, 2018.

AENDA. Mercado brasileiro de defensivos agrícolas no ano de 2019. 2020. Disponível em: https://www.acenda.org.br/noticia_imprensa/mercado-brasileiro-de-defensivos-agricolas-no-ano-de-2019/. Acesso em 20 jan. 2022.

AHKAMI, A. H.; ALLEN WHITE, R.; HANDAKUMBURA, P. P.; JANSSON, C. Rhizosphere engineering: enhancing sustainable plant ecosystem productivity. *Rhizosphere*, v.3, n.4, p.233-243, 2017.

ALVES, S. B.; LOPES, R. B. **Controle Microbiano de pragas na América Latina**. FAPESP/FEALQ, Piracicaba, São Paulo, Brasil, 2008.

ALVES, S. B.; BOTELHO, P. S.; ALVES, L. F. A.; MOSCARDI, F. Produção de vírus entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, pp.871-888, 1998.

ANPII. **Inoculantes** - Globalfert Outlook 2020. Disponível em: www.anpii.org.br/tag/globalfert/. Acesso em: 25 ago. 2021.

ARAUJO, S. C. **Caminhos, escolhas e conquistas**. São Paulo: ANPII, 2017. 139 p.

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

BATISTA FILHO, A.; COSTA, V. A.; HOJO, H. *Neodusmetia sangwani* (Subba Rao) (Hymenoptera: En-cyrtidae) to control *Antonina graminis* (Maskell) (Hemiptera: Pseudococcidae) in pastures in Brazil: a revision. *Arquivos do Instituto Biológico* v. 84, p. 1-8, 2018.

BELLEI, M. M.; CARVALHO, E. M. S. Ectomicorrizas. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. **Microbiologia do solo**. Campinas: SBCS, pp.298-318, 1992.

BETTIOLO, W. **Controle biológico de doenças de plantas**. Brasília: Embrapa. 1991. 388 p.

BETTIOLO, W. Biological control of plant pathogens in Brazil: application and current research. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, v. 12, p. 505-510, 1996.

BETTIOLO, W. Visão macro do mundo dos biólogos. *Campo & Negócios HF*, v.193, p.53-55, 2021.

BETTIOLO, W.; MAFFIA, L. A.; CASTRO, M. L. M. P. Control biológico de enfermidades de plantas en Brasil. In: BETTIOLO, W.; RIVERA, M.C.; MONDINO, P.; MONTEALE-GRE, J. R.; COLMENÁREZ, Y.C. (Eds.). **Control biológico de enfermidades de planta en América Latina y el Caribe**. Montevideo: Universidad de la República, pp. 91-137, 2014.

BETTIOLO, W.; SILVA, J. C.; CASTRO, M. L. M. P. Uso atual e perspectivas do *Trichoderma* no Brasil. In: MEYER, M.C.; MAZARO, S.M.; SILVA, J.C. (Eds.). **Trichoderma: uso na agricultura**. Brasília: Embrapa, p. 21-43, 2019.

BETTIOLO, W.; MEDEIROS, F. H. V.; BARROS, J.; MENDES, R. Advances in screening approaches for the development of microbial biopesticides for control of plant diseases. In: KÖHL, J.; RAVENSBERG, W. (Eds.). **Microbial biopesticides for plant disease management**. Cambridge: Burleigh Dodds Science Publishing, 2021. DOI: 10.19103/AS.2021.0093.02.

BUTTIMER, C.; MCAULIFFE, O.; ROSS, R. P.; HILL, C.; O'MAHONY, J.; COFFEY, A. Bacteriophages and bacterial plant diseases. *Frontiers in Microbiology*, v.8, article 34, 2017.

BUENO, V. H. P.; PARRA, J. R. P.; BETTIOLO, W.; van LENTEREN, J. C. Biological control in Brazil. In: van LENTEREN, J.C.; BUENO, V.H.P.; LUNA, M.G.; COLMENAREZ, Y.C. (Eds.). **Biological control in Latin America and the Caribbean: its rich history and bright future**. Wallingford: CABI. p. 78-107, 2020.

CHARLES, V. K. A fungus on lace bug. *Mycologia* v. 29, p. 216-221, 1937.

CHAPPELLE, E.; MENDES, R.; BAKKER, P. H.; RAAIJMAKERS, J. M. Fungal invasion of the rhizosphere microbiome. *The ISME Journal*, v. 10, n.1, p. 265-268, 2016. DOI: 10.1038/ismej.2015.82

CHIARAMONTE, J. B.; MENDES, L. W.; MENDES, R. Rhizosphere microbiome and soil-borne diseases. In: GUPTA, V.V.S.R.; SHARMA, A.K. (Eds.) **Rhizosphere Biology: Interactions Between Microbes and Plants**. Singapore: Springer, p. 155-168, 2021.

CHINNAPERUMAL, K.; GOVINDASAMY, B.; PARAMASIVAM, D.; DILIPKUMAR, A.; DHAYALAN, A.; VADIVEL, A.; SENGODON, K.; PACHIAPPAN, P. Bio-pesticidal effects of *Trichoderma viride* formulated titanium dioxide nanoparticle and their physiological and biochemical changes on *Helicoverpa armigera* (Hub.). *Pesticide Biochemistry Physiology* v.149, p.26-36, 2018. DOI: 10.1016/j.pestbp.2018.05.005

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar**, v. 8, n.3. Safra 2021/22. Terceiro levantamento, novembro de 2021. 63 p. Brasília: Conab, 2021. Disponível em: https://www.conab.gov.br/component/k2/item/download/39835_2a34b3e6c6f5d4dac107978bb0103d. Acesso em 22 fev. 2022.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**, v. 9, n. 5. Safra 2021/22. Quinto levantamento, fevereiro de 2022. 102 p. Brasília: Conab, 2022. Disponível em: https://www.conab.gov.br/component/k2/item/download/41109_2a7211e86b7b0c1a6c2dba38abc9d97c. Acesso em 22 fev. 2022.

CONTRERAS-CORNEJO, H. A.; VIVEROS-BREMAUNTZ, F.; DEL-VAL, E.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; LÓPEZ-CARMONA, D. A.; ALARCÓN, A.; GONZÁLEZ-ESQUIVEL, C. E.; LARSEN, J. Alterations of foliar arthropod communities in a maize agroecosystem induced by the root-associated fungus *Trichoderma harzianum*. *Journal of Pest Science* v. 94, p. 363-374, 2021. DOI: 10.1007/s10340-020-01261-3

COOK, R.; BAKER, K. *The nature and practice of biological control of plant pathogens*. St. Paul: APS Press, 1983. 539 p.

COSTA, J. M.; WILLIAMS, R. N.; SCHUSTER, M. F. Cochonilhas dos capins, *Antonina graminis* no Brasil: II. Introdução de *Neodusmetia sangwani*, inimigo natural da cochonilha [Rhodesgrass scale, *Antonina graminis* in Brazil: II. Introduction of *Neodusmetia sangwani*, a natural enemy of the scale]. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 5, p. 339-343, 1970.

COSTA, A. S.; MULLER, G. W. Tristeza control by cross protection. *Plant Disease*, v. 64, p. 538-541, 1980.

CROPLIFE. Cresce a adoção de produtos biológicos pelos agricultores brasileiros. 2021. Disponível em: <https://croplifebrasil.org/noticias/cresce-adoacao-de-produtos-biologicos-pelos-agricultores-brasileiros/>. Acesso em: 28 jan. 2022.

DI BENEDETTO, N. A.; CAMPANIELLO, D.; BEVILACQUA, A.; CATALDI, M. P.; CORBO, M.; SINIGAGLIA, M.; FLAGELLA, Z. Characterization of autochthonous plant growth promoting bacteria in relation to durum wheat nitrogen use efficiency. In: *Proceedings of Plant Biology Europe Congress EPSO/FESPB*, Prague Czech Republic, p. 26-30, 2016.

DI BENEDETTO, N. A.; CORBO, M. R.; CAMPANIELLO, D.; CATALDI, M. P.; BEVILACQUA, A.; SINIGAGLIA, M.; FLAGELLA, Z. The role of plant growth promoting bacteria in improving nitrogen use efficiency for sustainable crop production: a focus on wheat. *AIMS Microbiology*, v.3, n.3, p.413-434, 2017.

DÖBEREINER, J. Avanços recentes na pesquisa em fixação biológica de nitrogênio no Brasil. *Estudos Avançados*, v. 4, n. 8, p. 144-152, 1990. DOI: 10.1590/S0103-40141990000100011

DUNHAM TRIMMER. *State of the biological products industry discussion*. BPIA, BPIA 2021 Annual Meeting, 2021.

EMBRAPA SOJA. *Baculovirus anticarsia, um inseticida biológico*. 1997. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/17914027/baculovirus-anticarsia-um-inseticida-biologico>. Acesso em: 10 jan. 2022.

EMBRAPA SOJA. *Brasil tem o maior e melhor programa de controle biológico do mundo*. 2004. Disponível em: <http://memoria.ebc.com.br/agenciabrasil/noticia/2004-02-20/brasil-tem-maior-e-melhor-programa-de-controle-biologico-do-mundo>. Acesso em: 11 jan. 2022.

ENGLISH-LOEB, G.; NORTON, A. P.; GADOURY, D.; SEEM, R.; WILCOX, W. Biological control of grape powdery mildew using mycophagous mites. *Plant Disease*, v.91, p.421-429, 2007.

ESKES, A. B.; MENDES, M. D. L.; ROBBS, C. F. Laboratory and field studies on parasitism of *Hemileia vastatrix* with *Lecanicillium lecanii* and *V. leptobactrum*. *Café Cacao and Thé*, v.35, p.275-282, 1991.

GABRIEL, D. *Cochonilha dos capins Antonina graminis [Rhodesgrass scale Antonina graminis]*. São Paulo: Instituto Biológico. 2017. 14p. (Instituto Biológico. Documento Técnico, 30).

GARCÍA, R.; LATZ, S.; ROMERO, J.; HIGUERA, G.; GARCÍA, K.; BASTÍAS, R. Bacteriophage production models: an overview. *Frontiers in Microbiology*, v. 10, p. 1187, 2019.

GARCÍA-PEDRAJAS, M. D.; CAÑIZARES, M. C.; SARMIENTO-VILLAMIL, J. L.; JACQUAT, A. G.; DAMBOLENA, J. S. Mycoviruses in biological control: from basic research to field implementation. *Phytopathology*, v.109, p.1828-1839, 2019.

GLOBALFERT. *Outlook Globalfert 2021*. 2021. Disponível em: <https://globalfert.com.br/OGFposEvento/arquivo/Outlook-GlobalFert-2021.pdf>. Acesso em: 25 jan. 2022.

HARADA, L. K.; SILVA, E. C.; CAMPOS, W. F.; FIOL, F. S. D.; VILA, M.; DABROWSKA, K.; KRYLOV, V. N.; BALCÃO, V. M. Biotechnological applications of bacteriophages: state of the art. *Microbiology Research*, v.212-213, p.38-58, 2018.

HADDAD, F.; MAFFIA, L. A.; MIZUBUTI, E. S. G.; TEIXEIRA, H. Biological control of coffee rust by antagonistic bacteria under field conditions in Brazil. *Biological Control*, v.49, p.114-119, 2009.

HARMAN, G. E. Myths and dogmas of biocontrol: changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Disease*, v.84, p.377-393, 2000. DOI: 10.1094/PDIS.2000.84.4.377

HARMAN, G. E. Multifunctional fungal plant symbionts: new tools to enhance plant growth and productivity. *New Phytologist*, v.189, p.647-649, 2011. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2010.03614.x

HEINIGER, U.; RIGLING, D. Biological control of chestnut blight in Europe. *Annual Review of Phytopathology*, v.32, p.581-599, 1994.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J.; MENDES, I.C. *A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro*. Londrina: Embrapa Soja, 80 p. 2007. (Embrapa Soja. Documentos, 283).

- HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Soybean seed coinoculation with *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense*: a new biotechnological tool to improve yield and sustainability. *American Journal of Plant Science*, v. 6, p.811-817, 2015. DOI: 10.4236/ajps.2015.66087
- KÖHL, J.; POSTMA, J.; NICOT, P.; RUOCCO, M.; BLUM, B. Stepwise screening of microorganisms for commercial use in biological control of plant pathogenic fungi and bacteria. *Biological Control*, v.57, p.1-12, 2011.
- ILANGUMARAN, G., SMITH, D. L. Plant growth promoting rhizobacteria in amelioration of salinity stress: a systems biology perspective. *Frontiers in Plant Science*, v.8, 1768, 2017.
- JONES, J. B.; VALLAD, G. E.; IRIARTE, F. B.; OBRADOVIC, A.; WERNING, M. H.; JACKSON, L. E.; BALOGGH, B.; HONG, J. C.; MOMOL, M. T. Considerations for using bacteriophages for plant disease control. *Bacteriophage*, v.2, n.4, p.208-214, 2012.
- LEMUS-MINOR, C. G.; CAÑIZARES, M. C.; GARCÍA-PEDRAJAS, M. D.; PÉREZ-ARTÉS, E. Horizontal and vertical transmission of the hypovirulence-associated mycovirus *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* virus 1. *European Journal of Plant Pathology*, v.153, p.645-650, 2019.
- LI, Z.; ALVES, S. B.; ROBERTS, D.; FAN, M.; DELALIBERA, I.; TANG, J.; LOPES, R. B.; FARIA, M.; RANGEL, D. E. N. Biological control of insects in Brazil and China: history, current programs and reasons for their successes using entomopathogenic fungi. *Biocontrol Science and Technology* v.20, p.117-136, 2010.
- LIU, S. -F.; WANG, G. -J.; NONG, X. -Q.; LIU, B.; WANG, M. -M.; LI, S. -L.; CAO, G. -C.; ZHANG, Z. -H. Entomopathogen *Metarhizium anisopliae* promotes the early development of peanut root. *Plant Protection Science*, v.53, p.101-107, 2017.
- MAPA. **Conceitos**. 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inovacao/bioinsumos/o-programa/conceitos>. Acesso em: 09 nov. 2021.
- MAPA. **Agrofit**: consulta aberta. 2022. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agro_fit_cons. Acesso em: 15 jan. 2022.
- MARKETS AND MARKETS. **Biopesticides Market by Type** (Bioinsecticides, Biofungicides, Bionematicides, and Bioherbicides), Source (Microbials, Biochemicals, and Beneficial Insects), Mode of Application, Formulation, Crop Application, and Region - Global Forecast to 2025. Disponível em: https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/biopesticides-267.html?gclid=CjwKCAiA17P9BR B2EiwAMvwNyN1J3llIag6ewvyHPSndQLQhV5r5rkpbhZIGCAR6Ju61h366uRJ0EhoCov0QAuD_BwE. Acesso em: 25 nov. 2021.
- MASCARIN G. M.; SILVA, A. V.; SILVA, T. P.; KOBORI, N. N.; MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. *Clonostachys rosea*: production in submerged culture and bioactivity against *Sclerotinia sclerotiorum* and *Bemisia tabaci*. *Frontiers in Microbiology*, preprint, 2022. DOI: 10.3389/fmicb.2022.851000
- MENDES, I. C.; REIS JUNIOR, F. B.; CUNHA, M. H. **20 perguntas e respostas sobre fixação biológica de nitrogênio**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2010. 19p. (Embrapa Cerrados. Documentos, 281).
- MENDES, R.; KRUIJT, M.; DE BRUIJN, I.; DEKKERS, E.; VAN DER VOORT, M.; SCHNEIDER, J. H. M.; RAAIJMAKERS, J. M. Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria. *Science*, v.332, n.6033, p.1097-1100., 2011
- MENDES, L. W.; RAAIJMAKERS, J. M.; HOLLANDER, M.; MENDES, R.; TSAI, S. M. Influence of resistance breeding in common bean on rhizosphere microbiome composition and function. *The ISME Journal*, v.12, n.1, p.212-224, 2018.
- MONTE, E.; BETTIOL, W.; HERMOSA, R. *Trichoderma* e seus mecanismos de ação para o controle de doenças de plantas. In: MEYER, M.C.; MAZARO, S.M.; SILVA, J.C. (eds). *Trichoderma*: uso na agricultura. Brasília: Embrapa, p. 181-199, 2019.
- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2002. 625 p.
- MOSCARDI, F. Use of viroses for pest control in Brazil: the case of the nuclear polyhedrosis virus of the soybean caterpillar, *Anticarsia gemmatalis*. **Memória do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 84, p. 51-56, 1989.
- MOSCARDI, F.; ALLEN, G. E.; GREENE, G. L. Control of velvetbean caterpillar by nuclear polyhedrosis virus and insecticides and impact of treatments on the natural incidence of the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi*. *Journal of Economy Entomology*, v. 74, p. 480-485, 1981.
- MOSCARDI, F.; MORALES, L.; SANTOS, B. The successful use of AgMNPV for the control of the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatalis*, in soybean in Brazil. In: XXXV Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology. **Proceedings**. Brazil: Foz de Iguassu, p.86-91, 2002.
- MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, v.59, p.651-681, 2008.
- NIU, B.; PAULSON, J. N.; ZHENG, X.; KOLTER, R. Simplified and representative bacterial community of maize roots. *PNAS*, v.114, n.12, E2450-E2459, 2017.
- NUMAN, M.; BASHIR, S.; KHAN, Y.; MUMTAZ, R.; SHINWARI, Z. K.; KHAN, A. L.; KAN, A.; AL-HARRASI, A. Plant growth promoting bacteria as an alternative strategy for salt tolerance in plants: a review. *Microbiological Research*, v.209, p.21-32, 2018.

- OLANREWAJU, O. S.; GLICK, B. R.; BABALOLA, O. O. Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.33, p.197, 2017.
- OLIVEIRA, C.; FERREIRA, J. A. M.; OLIVERIA, R. M.; SANTOS, F. O.; PALLINI, A. *Ricoseius loxochelae*, a phytoseiid mite that feeds on coffee leaf rust. **Experimental Applied Acarology**, v. 64, n. 2, p. 223-233, 2014. DOI: 10.1007/s10493-014-9814-y
- OROZCO-MOSQUEDA, M. C.; DUN, J.; DIBERNARDO, M.; ZETTER, E., CAMPOS-GARCIA, J.; GLICK, B. R.; SANTOYO, G. The production of ACC Deaminase and trehalose by the plant growth promoting bacterium *Pseudomonas* sp. UW4 synergistically protect tomato plants against salt stress. **Frontiers in Microbiology** v.10, p.1392, 2019.
- OWNLEY, B. H.; GRIFFIN, M. R.; KLINGEMAN, W. E.; GWINN, K. D.; MOULTON, J. K.; PEREIRA, R. M. *Beauveria bassiana*: endophytic colonization and plant disease control. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.98, p.267-270, 2008.
- PARRA J. R. P. Biological control in Brazil: an overview. **Scientia Agricola**, v. 71, p. 345-355, 2014.
- PICARELLI, M. A. S. C.; GOBATO, D.; PATRÍCIO, F.; RIVAS, E. B.; COLARICCIO, A. Virus que infectam fungos fitopatogênicos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.84, e0162016, 2017.
- PRANDO, A. M.; OLIVEIRA, A. B.; LIMA, D.; POSSAMAI, E. J.; REIS, E. A.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M.; HARGER, N.; CONTE, O. Coinoculação da soja com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* na safra 2018/2019 no Paraná. Londrina: Embrapa Soja, 2019. 19p. (Embrapa Soja. Circular técnica, 156).
- PRINCIPI, N.; SILVESTRI, E.; ESPOSITO, S. Advantages and limitations of bacteriophages for the treatment of bacterial infections. **Frontier in Pharmacology**, v. 10, e513, 2019. DOI: 10.3389/fphar.2019.00513
- QI, J.; AIUCHI, D.; TANI, M.; ASANO, S-I.; KOIKE, M. Potential of entomopathogenic *Bacillus thuringiensis* as plant growth promoting rhizobacteria and biological control agents for tomato *Fusarium* wilt. **International Journal of Environmental Agriculture Research**, v.2, p.55-63, 2016.
- RABBEE, M. F.; ALI, M. S.; CHOI, J.; HWANG, B. S.; JEONG, S. C.; BAEK, K. *Bacillus velezensis*: a valuable member of bioactive molecules within plant microbiomes. **Molecules**, v. 24, n. 6, e1046, 2019. DOI: 10.3390/molecules24061046
- RAVINDRAN, K.; CHITRA, S.; WILSON, A.; SIVARAMAKRISHNAN, S. Evaluation of antifungal activity of *Metarhizium anisopliae* against plant phytopathogenic fungi. In: KRARWAR, R. N.; UPADHYAY, R. S.; DUBEY, N. K.; RAGHUWASNSHI, R. (Eds.) **Microbial diversity and biotechnology in food security**. Tamil Nadu: Springer India, p. 251-255, 2014.
- ROCKSTRÖM, J.; STEFFEN, W.; NOONE, K.; PERSSON, A.; CHAPIN III, F. S.; LAMBIN, E. F.; LENTON, T. M.; FOLKE, C.; SHELLNHUBER, H. J.; NYKVIST, B.; WIT, C. A.; HUGHES, T. van der LEEUW, S.; RODHE, H.; SÖRLIN, S.; SNYDER, P. K.; COSTANZA, R.; SVEDIN, U.; FALKENMARK, M.; KARLBERG, L.; CORREL, R. W.; FABRY, V. J.; HANSEN, J.; WALKER, B.; LIVERMAN, D.; RICHARDSON, K.; CRUTZEN, P.; FOLEY, J. A. A safe operating space for humanity. **Nature**, v.461, p.472-475, 2009. DOI: 10.1038/461472a
- RUBIO, M. B.; HERMOSA, R.; VICENTE, R.; GÓMEZ-ACOSTA, F.; MORCUENDE, R.; MONTE, E.; BETTIOL, W. The combination of *Trichoderma harzianum* and chemical fertilization leads to the deregulation of phytohormone networking, preventing the adaptive response of tomato plants to salt stress. **Frontiers in Plant Science** v.8, p. 294, 2017.
- SANTOS, M. S.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Microbial inoculants: Reviewing the past, discussing the present and previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture. **AMB Express**, v. 9, p. 205, 2019. DOI:10.1186/s13568-019-0932-0
- SANTOS, M. S.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Outstanding impact of *Azospirillum brasilense* strains Ab-V5 and Ab-V6 on the Brazilian agriculture: Lessons that farmers are receptive to adopt new microbial inoculants. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 45, e0200128, 2021. DOI: 10.36783/18069657rbcs20200128.
- SARVEN, M. S.; HAO, Q.; DENG, J.; YANG, F.; WANG, G.; XIAO, Y.; XIAO, S. Biological control of tomato gray mold caused by *Botrytis cinerea* with entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **Pathogens**, v.9, a213, 2020. DOI: 10.3390/pathogens9030213
- SASAN, R. K.; BIDOCHKA, M. J. The insect-pathogenic fungus *Metarhizium robertsii* (Clavicipitaceae) is also an endophyte that stimulates plant root development. **American Journal of Botany**, v.99, p.101-107, 2012.
- SILVEIRA, A. P. D. Micorrizas. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. **Microbiologia do solo**. Campinas: SBCS, pp.257-282, 1992.
- SOSA-GÓMEZ, D.; MOSCARDI, F.; SANTOS, B.; ALVES, L. F. A.; ALVES, S. B. Produção e uso de vírus para o controle de pragas na América Latina. In: ALVES, S. B.; LOPES, R. B. (Eds.). **Controle microbiano de pragas na América Latina**. Piracicaba: FEALQ, p. 49-68, 2008.
- SUN, B.; BAI, Z.; BAO, L.; XUE, L.; ZHANG, S.; WEI Y.; ZHANG, Z.; ZHUANG, G.; ZHUANG, X. *Bacillus subtilis* biofertilizer mitigating agricultural ammonia emission and shifting soil nitrogen cycling microbiomes. **Environment International**, v. 144, article 105989, 2020. DOI: 10.1016/j.envint.2020.105989

- TOMILOVA, O. G.; SHALDYAEVA, E. M.; KRYUKOVA, N. A.; PILIPOVA, Y. V.; SCHMIDT, N. S.; DANILOV, V. P.; KRYUKOV, V. Y.; GLUPOV, V. V. Entomopathogenic fungi decrease *Rhizoctonia* disease in potato in field conditions. *PeerJ*, 8, e9895, 2020. DOI: 10.7717/peerj.9895
- van LENTEREN, J. C.; BOLCKMANS, K.; KÖHL, J.; RAVENSBERG, W. J.; URBANEJA, A. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *BioControl*, v.63, p.39-59, 2018.
- van LENTEREN, J. C.; BUENO, V. H. P.; LUNA, M. G.; COLMENAREZ, Y. C. (Eds.). **Biological Control in Latin America and the Caribbean: Its Rich History and Bright Future**. Boston: CABI, 2020. 550 p.
- VU, N. T.; VIEGAS, A. P. Um amigo do fazendeiro: *Verticillium lecanii* (Zimm) n. comb., o causador do halo branco do *Coccus viridis* (Green). Campinas: Instituto Agronômico do Estado. 1939. 17p. (IAC. Boletim Técnico, 69).
- VU, N. T.; OH, C.S. Bacteriophage usage for bacterial disease management and diagnosis in plants. *Plant Pathology Journal*, v.36, n.3, p.204-217, 2020.
- WANG, S.; ONGENA, M.; QIU, D.; GUO L. Fungal viruses: promising fundamental research and biological control of fungi. *SM Virology*, v.2, n.1, p. 1011, 2017.
- YU, S.; LI, B.; FU, Y.; XIE, J.; CHENG, J.; GHABRIAL, S.A.; LI, G.; YI, X.; JIANG, D. Extracellular transmission of a DNA mycovirus and its use as a natural fungicide. *PNAS*, v.110, n.4, p.1452-1457, 2013.

Mercado e perspectivas dos bioinsumos no Brasil

Amália Cristina Piazzentim Borsari

Leila Campos Vieira

Introdução

O termo bioinsumo foi definido na legislação brasileira em 2020 pelo Decreto nº 10.375 que instituiu o Programa Nacional de Bioinsumos (PNB) com intuito de padronizar e incentivar o desenvolvimento e uso destes produtos no Brasil (Brasil, 2020). De acordo com o PNB, é considerado bioinsumo todo produto, processo ou tecnologia de origem vegetal, animal ou microbiana, destinado ao uso na produção, no armazenamento e no beneficiamento de produtos agropecuários, nos sistemas de produção aquáticos ou de florestas plantadas, que interfiram positivamente no crescimento, no desenvolvimento e no mecanismo de resposta de animais, de plantas, de microrganismos e de substâncias derivadas e que interajam com os produtos e os processos físico-químicos e biológicos. Trata-se de uma categoria ampla de insumos, que envolve uma miríade de possíveis soluções, cujos principais representantes são os produtos relacionados à nutrição vegetal, como inoculantes e biofertilizantes, ao estímulo, como os bioestimulantes, e ao controle de pragas, doenças e plantas daninhas, como os produtos biológicos de controle, ou defensivos biológicos, incluindo os semioquímicos.

Duas legislações brasileiras regulam os bioinsumos em destaque, a lei 7.802/89 de Agrotóxicos e a lei 6.894/80 de Fertilizantes e Inoculantes. Há, contudo, algumas diferenças a serem salientadas quando se faz referência a biofertilizantes e bioestimulantes, pois a definição e regulamentação internacional difere da que vem sendo utilizada no Brasil. Em algumas classificações encontradas na literatura, o termo biofertilizante inclui os inoculantes e os bioestimulantes. Além disto, a regulamentação do Brasil não traz clareza na definição de produtos bioestimulantes. Neste sentido, há uma certa confusão na análise destes grupos para a mensuração do mercado no Brasil em comparação aos dados internacionais.

A utilização de bioinsumos vem crescendo no Brasil e no mundo devido aos fatores relacionados às questões regulatórias, de mercado e de manejo das culturas. O mercado global de biológicos para agricultura, que envolve biodefensivos, inoculantes, bioestimulantes e biofertilizantes, foi estimado em US\$9,9 bilhões em 2020 e, nesse rol, apenas os produtos biológicos de controle, respondem por US\$5,2 bilhões (IHS Markit, 2021).

A expectativa é a de que o mercado mundial de bioinsumos continue apresentando elevada taxa de crescimento, alcançando um valor acima de US\$ 10 bilhões para biodefensivos e US\$ 3 bilhões para bioestimulantes (Figura 1).

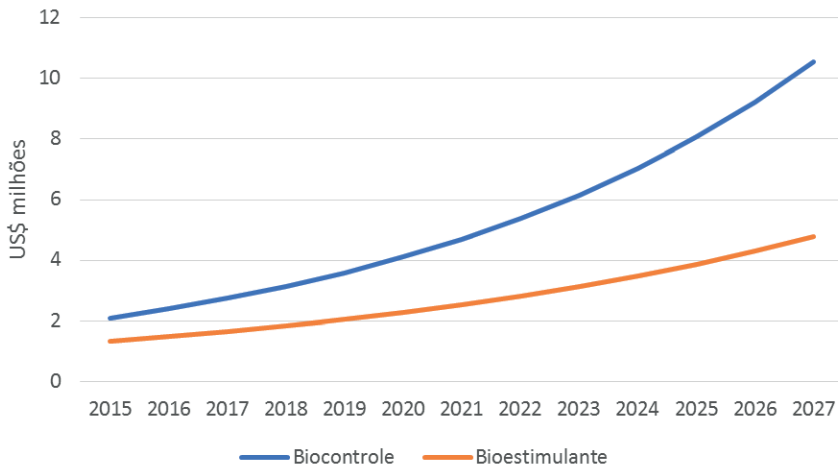


Figura 1. Estimativa de crescimento global dos produtos biológicos de controle e bioestimulantes.

Fonte: Dunham Trimmer, 2021.

Nas próximas seções serão abordados o uso atual e as perspectivas dos bioinsumos por categorização de produto: biológicos de controle, inoculantes e bioestimulantes.

Produtos Biológicos de Controle

No mercado de produtos biológicos de controle, grupo mais expressivo entre os bioinsumos, diversos aspectos têm estimulado o crescimento da utilização no mundo e no Brasil. O primeiro deles é a crescente pressão de órgãos reguladores no sentido de restringir a aprovação de produtos químicos, impondo critérios mais rígidos em termos de toxidez e persistência no ambiente. Com isso, o tempo e custo envolvido desde a descoberta de uma nova molécula até a disponibilização de novos defensivos químicos, que já eram elevados, tornam-se ainda maiores.

Um outro fator de estímulo ao mercado de produtos biológicos está relacionado à redução das opções de controle de pragas e doenças, devido à perda de efetividade de alguns ativos químicos, acelerada pelo uso intensivo e consequente surgimento de resistência. Esse fato aliado à menor velocidade de desenvolvimento e lançamento de novas moléculas, abre espaço para opções com modos de ação distintos, como são os produtos biológicos.

Com isso, se observa que, enquanto novos produtos convencionais colocados à disposição de produtores apresentam tendência de queda, os produtos biológicos mostram evolução no sentido contrário. Em anos recentes, no mundo, os lançamentos de produtos biológicos superaram os defensivos químicos (Figura 2).

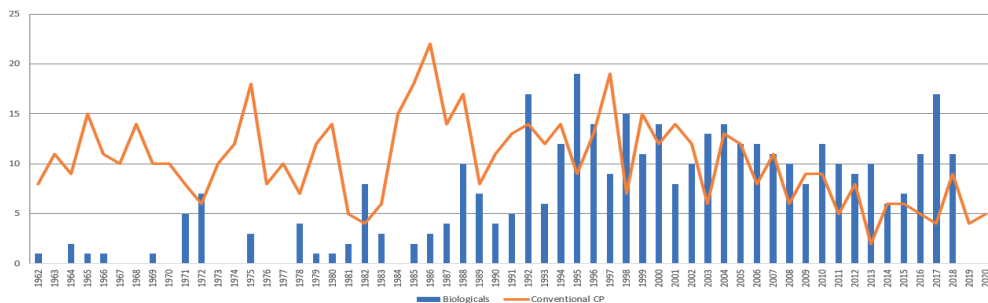


Figura 2. Novos produtos biológicos e convencionais para defesa vegetal introduzidos por ano mundialmente.

Fonte: IHS Markit, 2021.

No mesmo sentido, diversas políticas públicas colaboram para desestimular a utilização de químicos e favorecer plantios orgânicos. O exemplo mais ilustrativo é o *Green Deal* e a estratégia *Farm to Fork*, na União Europeia, que apresentam metas ambiciosas de redução da utilização de defensivos químicos e aumento de áreas dedicadas à agricultura orgânica dentro do bloco (European Commission, 2021). Faz parte da estratégia do bloco, também, a difusão desse modelo de política agrícola para outros países fora do bloco europeu, através de seu poder de influência. Nos fóruns internacionais relacionados às discussões sobre clima e sobre Sistemas Alimentares, por exemplo, observa-se a tendência de fomentar tecnologias que reduzam o emprego de produtos que deixam resíduos e que envolvam grandes emissões de CO₂ em seu processo produtivo.

É preciso destacar também que, com o desenvolvimento de formulações e novas tecnologias de produção, os produtos biológicos têm propiciado resultados melhores no campo, o que eleva a credibilidade e, como consequência, os níveis de adoção dessa categoria de insumos. Esses aspectos vêm despertando cada vez mais interesse das empresas, que aumentam os investimentos no desenvolvimento de novos produtos, alimentando novos lançamentos e levando grandes *players* de defensivos químicos a incorporarem esses ativos aos seus portfólios.

É interessante destacar que, por se tratar de um segmento em que as barreiras à entrada não são tão elevadas quanto as verificadas na indústria de defensivos químicos, se observa crescente participação de empresas de menor porte, muitas delas nacionais. Há, atualmente, cerca de 132 empresas com registros de biológicos ativos no Brasil (Figura 3). Vale ressaltar que nos últimos anos houve uma agilização no tempo de obtenção de registros de produtos biológicos. Segundo a Move Analytics, o tempo médio entre a submissão do pedido de registro de biodefensivos e a publicação da autorização no Diário Oficial da União passou de 2 anos em 2010 para 9 meses em 2021.

Se esses fatores já sinalizavam um ambiente interno mais propício para produção e investimentos em tecnologias de base biológica, houve novo impulso com o lançamento do PNB. Ademais, discussões para estímulos ao desenvolvimento científico, tecnológico e de inovação estão sendo priorizadas no âmbito do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações, conforme a publicação da Portaria MCTI n° 5218 de 2021 (Brasil, 2021).

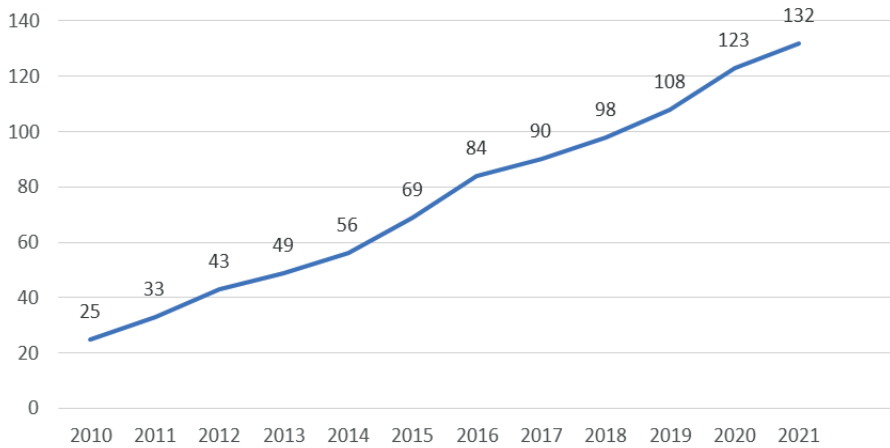


Figura 3. Número de empresas registrantes de produtos biológicos de controle no Brasil.

Fonte: Move Analytics, 2021.

Para acompanhar a dinâmica do mercado dos produtos biológicos de controle, é importante entender como são feitas a classificação e a categorização por alvo, de acordo com a legislação brasileira e a literatura.



Figura 4. Classificação dos produtos biológicos de controle.

Fonte: CropLife Brasil 2021b.

Os ativos biológicos derivados de vegetais, animais, microbiano ou oriundo de processos tecnológicos que os tornem idênticos ou estruturalmente similares a estes são classificados como bioquímicos ou semioquímicos. Os organismos unicelulares vivos ou inativados, em forma de cepa, incluindo vírus, de ocorrência natural ou obtido por manipulação genética são classificados como microbiológicos, com destaque para as bactérias e os fungos. Por sua vez, os produtos oriundos de agentes biológicos, de ocorrência natural ou obtido por manipulação genética, são classificados como macrobiológicos, incluindo os insetos, ácaros e nematoides (Figura 4).

Em função do alvo, os produtos são categorizados como bioinseticidas, biofungicidas, bioacaricidas, bionematicidas, feromônios, aleloquímicos e reguladores de crescimento. Os efeitos dos ativos biológicos estão diretamente relacionados com a cepa dos microrganismos e com a formulação, que garante a otimização dos efeitos no campo, a estabilidade dos ativos, a compatibilidade com outros produtos, o uso de menores doses, a redução de impactos de toxicidade, a facilidade na aplicação e o maior tempo de prateleira. Essas características são fundamentais para permitir que o produto biológico possa ser introduzido na estratégia de controle, junto aos produtos químicos e outros mecanismos previstos no manejo integrado, como por exemplo, tratos culturais e escolha de variedades.

Para ser comercializado no Brasil, o produto biológico de controle precisa ser avaliado por três órgãos independentes - a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), para os riscos à saúde; o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais (IBAMA), para os riscos ao meio ambiente; e o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), para a eficácia agrônômica. O produto só é registrado se obtiver aprovação dos três órgãos. O número de produtos biológicos de controle registrados tem avançado consideravelmente. Em março de 2022 foram contabilizados 502 produtos com registro ativo, entre bioinseticidas, biofungicidas, bionematicidas, feromônios, aleloquímicos, reguladores de crescimento e bioacaricidas para ação em cerca de 200 alvos biológicos. Destacam-se os registros de bioinseticidas, que respondem por cerca da metade dos registros ativos no Brasil (Figura 5).

A maior impulso na adoção de produtos biológicos de controle ocorreu com o surto da lagarta *Helicoverpa armigera* em 2013, que atingiu importantes áreas de soja no Brasil, ocasião em que os bioinseticidas mostraram eficiência no controle. Desde então, a indústria vem intensificando investimentos em pesquisa e desenvolvimento, resultando em maior inovação tecnológica e lançamentos de novos produtos.

O relatório da comercialização e produção de produtos microbiológicos de controle publicado pelo IBAMA (2020) apontou que houve um aumento em 2019 em comparação com 2018 de 47,2% na produção, de 20,4% na importação e de 50,4% nas vendas nacionais.

Em 2020, a indústria de produtos biológicos registrou um faturamento próximo de R\$ 1,2 bilhão. Mesmo representando cerca de 15% dos biodefensivos registrados, os bionematicidas representaram o maior valor (25%) entre os ativos biológicos comercializados no país, seguido pelos bioinseticidas (23%) e biofungicidas (22%) (Figura 6).

Uma pesquisa realizada em 2021 apontou que o mercado de biológicos de controle chegou a R\$1,3 bilhão de reais, em nível de produtor (*farm gate price*) na safra 20/21, um crescimento de 37%

PRODUTOS BIOLÓGICOS COM REGISTRO ATIVO NO BRASIL

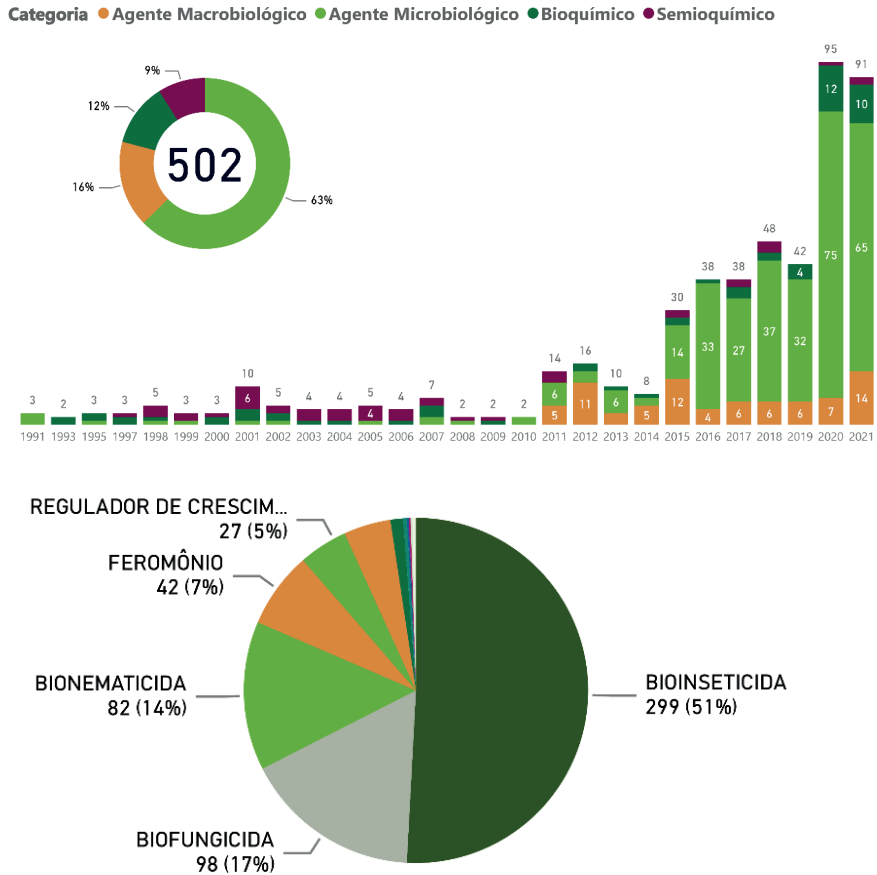


Figura 5. Produtos biológicos de controle com registros ativos no Brasil.

Fonte: CropLife Brasil, 2021c.

em relação a 2019/20 (Figura 7). Destacando-se a cultura da soja com a adoção do uso de biológicos em 46%, quando comparado com as demais culturas. Demonstrando, assim, que a cultura da soja tem alavancado a adoção de bioinsumos no Brasil.

Segundo a IHS Markit (2021), o mercado de produtos biológicos de controle no Brasil cresceu a uma taxa anual de 42% (CAGR) em comparação a taxa global de 16% (CAGR). Neste sentido, apesar do Brasil se posicionar atrás da Europa e Estados Unidos, com 5% do mercado global, o ritmo de crescimento consolidará um novo patamar nos próximos anos. A projeção é que em 2030 este setor alcance R\$ 16,9 bilhões, considerando uma taxa de crescimento acumulada GAGR de 35% até 2025 e de 25% até 2030 (Figura 8).

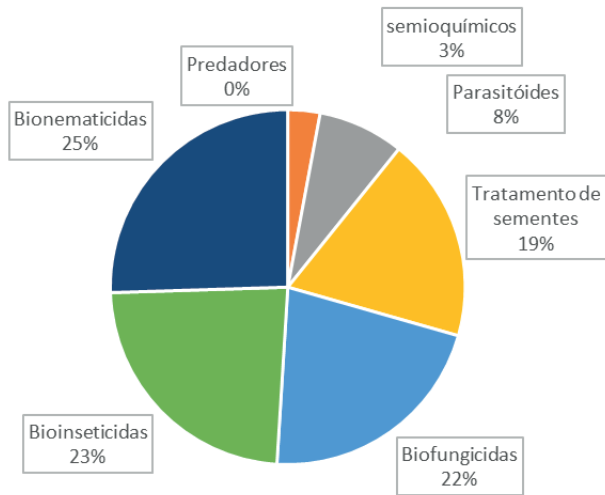


Figura 6. Distribuição do faturamento entre as categorias de bio defensivos, 2020.

Fonte: CropLife Brasil, 2021c.

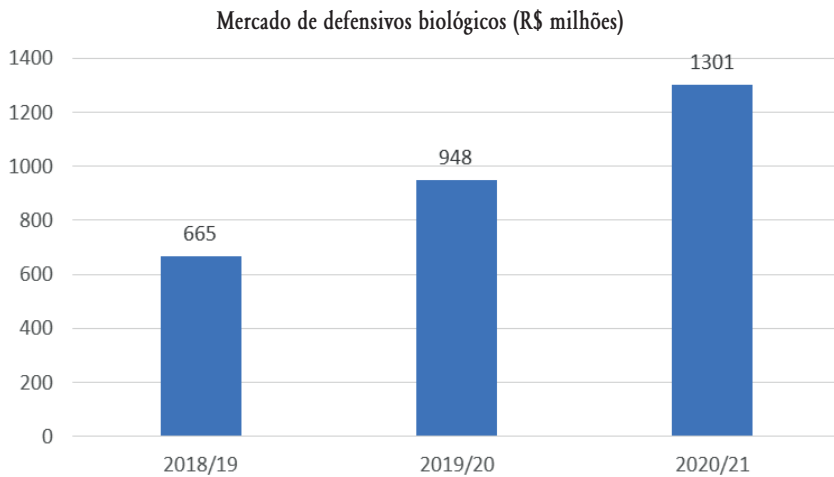


Figura 7. Mercado de bio defensivos em milhões de reais (R\$).

Fonte: Valor Econômico, 2021.

Entre as premissas que justificam este crescimento está a baixa taxa de adoção de bioinsumos pelo produtor rural brasileiro, estimada em 20%. Há ainda um grande potencial de crescimento. Se, na safra de 2017/18, a pesquisa da FNP Informa (2018), apontou que mais de 40% dos produtores rurais do Brasil não sabiam o que era um produto biológico de controle, hoje o cenário mudou. Segundo a Blink Consultoria, a taxa de adoção de bioinsumos de controle pelo produtor rural, na cultura da soja, carro chefe da agricultura brasileira, passou de 18% em 2019 para 27% em 2020.

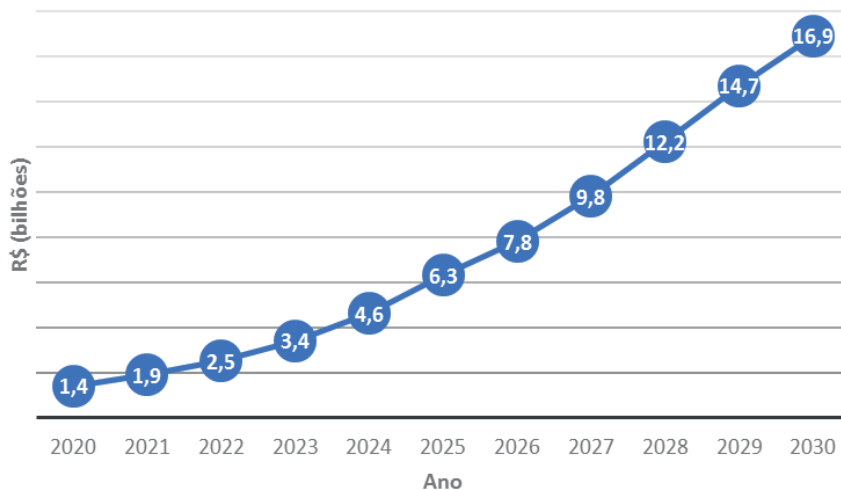


Figura 8. Estimativa da evolução do mercado de biodefensivos no Brasil.

Fonte: IHS Markit, 2021.

Inoculantes e Biofertilizantes

O termo inoculante é definido na legislação brasileira como a substância que contém microrganismos com atuação favorável ao desenvolvimento vegetal, por meio da fixação de N, mobilização de P e K e promoção de crescimento. Internacionalmente também são classificados como biofertilizantes.

Os inoculantes são conhecidos desde o século 19, com a descoberta da ação de bactérias na fixação do N atmosférico em formas assimiláveis pelas plantas. No Brasil, o primeiro produto comercial foi registrado em 1959 no Rio Grande do Sul e com o avanço da soja e com uma legislação específica criada em 1980, disciplinando e regulamentando a produção de inoculantes, a tecnologia continuou sendo desenvolvida.

O desenho de um adequado ambiente de inovação no Brasil vem permitindo, ao longo dos anos, a seleção de estirpes de bactérias eficientes e a coordenação com a pesquisa e disseminação de resultados vem estimulando a crescente adoção. A RELARE (Reunião da Rede de Laboratórios para Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologias de Inoculantes Microbianos de Interesse Agrícola), criada em meados da década de 1980, foi protagonista na história do uso de inoculantes microbianos para a promoção de crescimento de plantas no Brasil, auxiliando a transferência dos resultados da pesquisa para a indústria. Além disso, segue contribuindo no apoio à normatização de regras para a certificação de produtos biológicos de qualidade, estímulo ao mercado nacional através da promoção do uso de novos produtos e difusão de novas tecnologias associadas ao uso de inoculantes.

Atualmente o Brasil produz mais de 75 milhões de doses de inoculantes e o uso já representa cerca de 85% da área produtiva em soja. De 2009 a 2018 a produção cresceu, em volume, 15,5% ao ano, segundo estimativas da Associação Nacional de Produtores e Importadores de Inoculantes - ANPII (Figura 10). Essa evolução permitiu que o Brasil disseminasse o uso chegando a atingir uma área tratada de 37 milhões de hectares de soja com baixíssimo uso de fertilizantes nitrogenados. Estima-se que a inoculação

forneça a totalidade da necessidade de N da cultura da soja, sendo que para cada 1000 kg de grãos de soja produzidos sejam necessários 80 kg de N, que podem ser totalmente fornecidos pela fixação biológica.

A economia possibilitada pelo uso da tecnologia chega a cerca de 15 bilhões de dólares/ano, além do benefício da menor emissão de gases de efeito estufa (GEE), pois se evita o processo de fabricação e transporte de grandes volumes de fertilizante. Além da fixação biológica de nitrogênio com a inoculação da bactéria *Bradyrhizobium*, parte da área cultivada com grãos já pratica a coinoculação, que consiste no uso de uma segunda bactéria, *Azospirillum brasilense*, garantindo um maior desenvolvimento radicular, resistência a seca e maior nodulação (Croplife, 2021d).

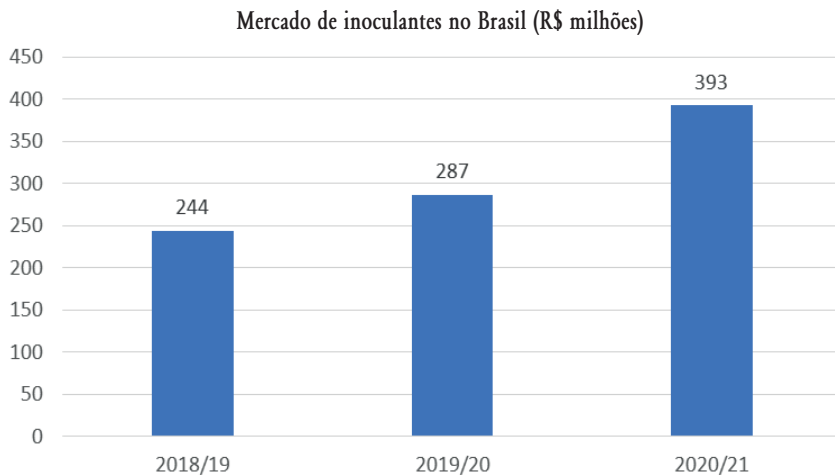


Figura 9. Mercado brasileiro de inoculantes, em R\$ milhões.

Fonte: Valor Econômico, 2021.

Os inoculantes são avaliados e registrados pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento e o número de registros tem avançado ano a ano trazendo novas tecnologias e formulações. No total, havia 36 empresas com registro de estabelecimento produtor e 9 empresas com registro para importação em maio de 2021. Segundo a ANPII (2020), cerca de 97% do total de inoculantes utilizado no Brasil é produzido nacionalmente, os demais 3% são importados predominantemente da Argentina e Uruguai.

O número de registros tem avançado, alcançando 408 produtos inoculantes no Brasil, sendo 7% importados. Quase a metade destes produtos registrados são recomendados para a cultura da soja, a base de 13 espécies bacterianas, sendo que 3 destas destinam a fixação biológica de nitrogênio e as demais estão registradas como promotores de crescimento.

Com a grande relevância da inoculação, muitas pesquisas têm sido conduzidas para entender melhor o sistema, além de buscar novas bactérias e genes que possam ampliar o manejo. Nos últimos anos, pesquisadores da Embrapa Milho e Sorgo e da Embrapa Soja desenvolveram inoculantes para melhorar a absorção de fósforo pelas plantas. As tecnologias utilizando combinações de microrganismos propiciam melhor mobilização e absorção de fósforo pela planta (Croplife, 2021e).

A produção em escala, a formulação e a comercialização destes microrganismos são realizadas pela iniciativa privada num sistema de convênio público privado, modelo que está acelerando o desenvolvimento tecnológico dos bioinsumos e aquecendo o mercado.

Segundo Dunham Trimmer (2021), os inoculantes crescem a uma taxa anual composta (CAGR) de 8 a 11% e alcançou um faturamento global de 1,2 bilhões de dólares em 2020.

Os inoculantes fixadores de nitrogênio dominam o segmento, representando cerca de 80% do mercado, os solubilizadores de fósforo respondem por cerca de 15% e os outros inoculantes promotores de crescimento representam cerca de 5% (Soumare, 2020). O mercado brasileiro total de inoculantes na safra 2020/21 superou 390 milhões de reais, um crescimento de 37% em comparação com a safra 2019/20 (Valor Econômico, 2021). A soja respondeu por 87,5% do total (Figura 11).

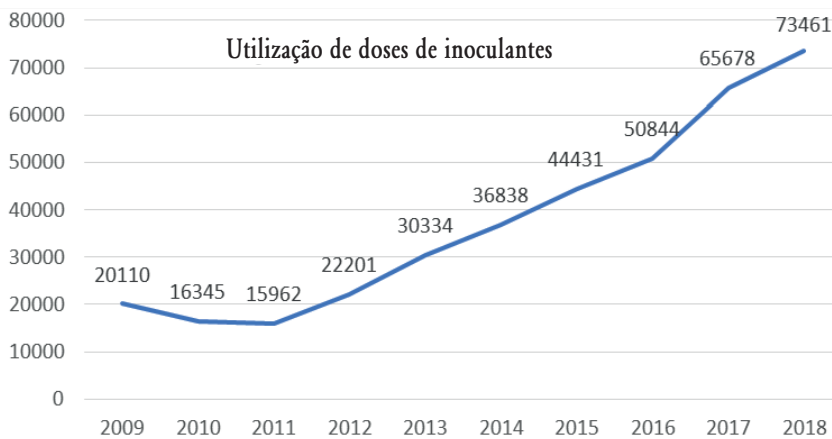


Figura 10. Evolução da adoção de inoculantes.

Fonte: ANPII, 2020.

A expectativa é que o setor de inoculantes no Brasil ultrapasse a taxa de crescimento anual projetada internacionalmente de cerca de 10% (CAGR) apoiada pelos seguintes fatores: 1) A alta dependência externa de fertilizantes contribuindo para o fortalecimento deste mercado no Brasil; 2) A tendência da expansão da área produtiva; 3) Aumento da prática de coinoculação; 4) A adoção crescente de bactérias solubilizadoras/mobilizadoras de fósforo, promotoras de crescimento e do crescente uso de novas tecnologias.

Bioestimulantes

O termo "bioestimulante" atualmente não está descrito na legislação brasileira, ou seja, para fins de registro não há uma classe de produtos denominada de "bioestimulantes", com a indicação clara dos requisitos necessários e, ainda, indicação do órgão responsável. Apesar de não estar na legislação, essa terminologia começou a ser utilizada nas últimas duas décadas no Brasil para as substâncias presentes nos fertilizantes foliares que visam melhorar as características não atreladas à nutrição, tais como: tolerância ao estresses abióticos, melhora da qualidade da cultura e maior eficiência na absorção de nutrientes (Croplife, 2021a).

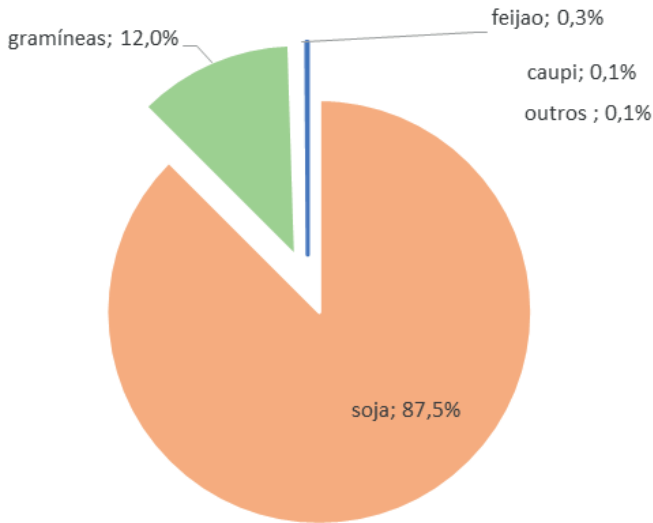


Figura 11. Participação das culturas no consumo de inoculantes.

Fonte: ANPII, 2020.

Como exemplos de bioestimulantes, podemos citar as substâncias a base de aminoácidos, hidrolisados de proteínas, substâncias húmicas, os extratos de algas, extratos vegetais e até mesmo os microrganismos e inoculantes promotores de crescimento. A lei 7.802/89 que regulamenta os agrotóxicos e afins, traz a figura dos produtos estimuladores (biológicos ou não), entretanto, sob o ponto de vista técnico, verifica-se, de fato, uma incongruência, já que existem muitos “biofertilizantes” e “inoculantes” que também possuem efeitos “estimulantes”, causando uma confusão do ponto de vista regulatório.

Este desarranjo se reflete na mensuração deste mercado no Brasil, já que nem todos os produtos fertilizantes foliares disponíveis no mercado com substâncias biológicas foram testados agronomicamente com efeitos estimulantes versus ações inerentes ao nutriente.

Internacionalmente a discussão regulatória persiste. Nos Estados Unidos ainda não há uma definição legal para bioestimulantes e o Parlamento Europeu há cerca de dois anos publicou uma regulamentação, mas ainda carece da definição de requerimentos para registro (EPA, 2020).

Apesar de toda a discussão, a Abisolo, Associação Brasileira das Empresas de Tecnologia em Nutrição Vegetal, mensura que este mercado de fertilizantes foliares que contém substâncias de ação bioestimulante ultrapassa R\$ 2,7 bilhões (Figura 12).

No Brasil há grande preocupação em relação aos impactos de eventos climáticos sobre importantes sistemas de produção, em especial à combinação soja-milho, cultivada em grande parte do Brasil. A seca é o principal sinistro observado tanto na soja como no milho (Gonçalves, 2019) e medidas mitigadoras são muito positivas para redução dos riscos associados às culturas.

A utilização de tecnologias que se propõem a mitigar efeitos de estresses abióticos ganha força face à crescente ocorrência de eventos climáticos adversos, tendência associada à evolução do fenômeno de aquecimento global. Com isso, forte ênfase tem sido dada ao desenvolvimento e utilização de tecnologias

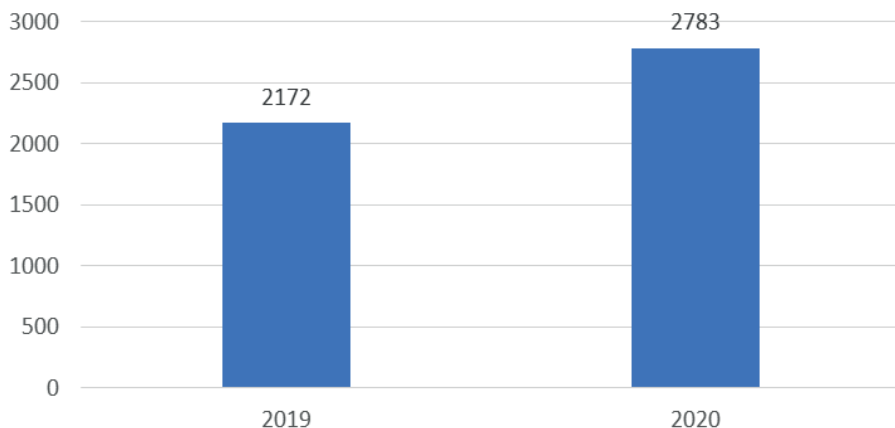


Figura 12. Mercado de bioestimulantes (fertilizantes que contêm substâncias com ação “bioestimulante”).

Fonte: Abisolo, 2021.

que tornem as culturas mais resilientes, ou seja, capazes de contornar situações de stress, evitando perdas de produtividade.

Nesse cenário, salientam-se as perspectivas positivas para essa categoria de produtos, o que demandará grande esforço de pesquisa para compreensão ainda mais aprofundada da fisiologia das plantas e de sua interação com moléculas exógenas e microrganismos. Novos métodos de monitoramento para avaliação da eficácia dos bioestimulantes também devem ser desenvolvidos, o que irá ajudar, principalmente, na criação de estratégias/recomendações de uso desses produtos. Esse conhecimento também será fundamental para harmonizar os processos regulatórios, respeitando as características únicas e individuais dos bioestimulantes.

Considerações finais

As tecnologias à base bioinsumos vivem um momento muito favorável no Brasil e no mundo. Há forte disposição, especialmente no Brasil, de pesquisadores, produtores, consultores e engenheiros agrônomos para conhecer e adotar novas tecnologias que permitam o enfrentamento de condições climáticas sabidamente desafiadoras, que afetam sobremaneira o desenvolvimento das plantas e as condições de sanidade das lavouras. Cada vez mais se consolida a visão de que os produtos de base biológica podem compor, junto a produtos químicos, variedades/biotecnologias e tratamentos culturais, diferentes e mais eficientes estratégias para o controle realmente integrado de pragas e doenças.

As soluções disponíveis vão além do controle destinado a garantir a sanidade e têm sido utilizadas para melhorar o aproveitamento de nutrientes e de água, aumentando a resiliência dos cultivos. Felizmente, muitas das soluções citadas, ambientalmente amigáveis, já se mostram também viáveis economicamente.

O momento é especialmente favorável porque acomoda de forma confortável toda a cadeia produtiva. O movimento de consolidação do mercado, tanto da indústria de insumos como da distribuição, coincide com a necessidade de agregar produtos de base biológica ao portfólio de soluções, de forma a garantir o melhor acesso ao produtor, que procura soluções integradas.

Na mesma linha, o forte impulso a tecnologias que envolvem o gerenciamento de dados e monitoramento de doenças e pragas, atreladas ao uso de equipamentos de aplicação com precisão, como drones, incorporam e impulsionam o uso de produtos biológicos, pois a maior eficácia destes produtos também está correlacionada à aplicação correta e tempestiva.

Do ponto de vista da demanda final, a crescente pressão do mercado consumidor, nacional e internacional, exigindo práticas mais sustentáveis no campo vem completar o elo que faltava. Os bioinsumos são percebidos como opções indispensáveis ao manejo, que viabilizam a entrega ao consumidor final de um produto seguro.

Portanto, o cenário dos bioinsumos no Brasil, que impulsiona a pesquisa básica e aplicada atrelada à indústria, gerando inovações, e que oferece ao produtor novas tecnologias e permite a produção de alimentos de forma sustentável, apresenta forte tendência de crescimento para os próximos anos, em níveis acima dos projetados para o mundo.

Referências

- ABISOLO. **Anuário Brasileiro de Tecnologia em Nutrição Vegetal**. 2021. Disponível em: <https://lps.abisolo.com.br/download-anuario-abisolo-2021/>. Acesso em: 19 ago. 2021.
- ANPII. Inoculantes. **OUTLOOK GlobalFert** 2020. Disponível em: <http://www.anpii.org.br/tag/globalfert/>. Acesso em: 19 ago. 2021.
- BRASIL. Decreto nº 10.375, de 26 de maio de 2020. Programa Nacional de Bioinsumos. **Diário Oficial da União**, seção 1, edição 100, p. 105, 27 maio 2020. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/decreto-n-10.375-de-26-de-maio-de-2020-258706480>. Acesso em: 29 out. 2021.
- BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações. Portaria MCTI nº 5.218, de 7 de outubro de 2021. Cria, no âmbito do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações - MCTI e de sua Política de Gestão baseada em redes, o Comitê de Especialistas Rede Bioinsumos - MCTI. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 14 out. 2021. Seção 1, edição 194, p. 7. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-mcti-n-5.218-de-7-de-outubro-de-2021-351986001>. Acesso em: 29 out. 2021.
- CROPLIFE BRASIL. **Bioestimulantes uma nova ferramenta para tratar as plantas**. Produto Biológico, 2021a. Disponível em: <https://croplifebrasil.org/conceitos/bioestimulante-uma-nova-ferramenta-para-tratar-as-plantas/>. Acesso em: 29 out. 2021.
- CROPLIFE BRASIL. **Classificação Produtos Biológicos**. Produto Biológico, 2021b. Disponível em: <https://croplifebrasil.org/publicacoes/classificacao-dos-produtos-biologicos/>. Acesso em: 29 out. 2021.
- CROPLIFE BRASIL. **Cresce a adoção de produtos biológicos pelos agricultores brasileiros**. Produto Biológico, 2021c. Disponível em: <https://croplifebrasil.org/noticias/cresce-a-adocao-de-produtos-biologicos-pelos-agricultores-brasileiros/>. Acesso em: 29 out. 2021.
- CROPLIFE BRASIL. **Fixação biológica de nitrogênio no campo ganha destaque internacional**. Produto Biológico, 2021d. Disponível em: <https://croplifebrasil.org/noticias/fixacao-biologica-de-nitrogenio-no-campo-ganha-destaque-internacional/>. Acesso em: 29 out. 2021.
- CROPLIFE BRASIL. **Inoculante brasileiro traz ganho de produtividade**. Produto Biológico, 2021e. Disponível em: <https://croplifebrasil.org/noticias/inoculante-brasileiro-traz-ganho-de-produtividade/>. Acesso em: 29 out. 2021.
- DUNHAM TRIMMER. **State of the Biological Products Industry Discussion**. BPIA 2021 Annual Meeting, 2021. Disponível em: <https://www.bpia.org/2021-participants/videos/>. Acesso em: 28 maio 2021.
- EPA. **Seeking Comments on Updated Plant Biostimulants Guidance**. EPA, 24 nov. 2020. Disponível em: <https://www.epa.gov/newsreleases/epa-seeking-comments-updated-plant-biostimulants-guidance>. Acesso em: 23 jun. 2021.
- EUROPEAN COMMISSION. **A European Green Deal**. 2021. Disponível em: https://ec.europa.eu/info/strategy/priorities-2019-2024/european-green-deal_en. Acesso em: 23 ago. 2021.
- GONÇALVES, S. L.; FARIAS, J. R. B.; SIBALDELLI, R. N. R. **Eventos climáticos adversos e seus impactos para as culturas de soja, milho e trigo no Brasil**. Londrina: Embrapa Soja, 2019. 48 p. (Embrapa Soja. Documentos, 420).

IBAMA. **Relatório de Comercialização de Agrotóxicos**. 2020. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#historicodecomercializacao>. Acesso em: 23 jun. 2021.

FNP Informa. **Biodefensivos: Mercado e Percepção do Produtor Brasileiro**. São Paulo. 2018. Disponível em: <https://bibliotecadigital.fgv.br/ojs/index.php/agroanalysis/issue/view/4387/2382>. Acesso em: outubro de 2021.

IHS MARKIT. **Annual New Product Introductions: Biological vs Conventional**. Disponível em: <https://ihsmarkit.com/research-analysis/biologicals-innovation.html>. Acesso em setembro de 2021.

MAPA. **Agrofit: consulta aberta**. 2022. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agro_fit_cons>. Acesso em: 10 jan. 2022.

MOVE ANALYTICS. **Relatório de tempo médio para concessão de registro**. Disponível em: <https://moveanalytics.com.br/>. Acesso em: janeiro de 2022.

VALOR ECONÔMICO. Venda de insumos biológicos cresce 37% no país, diz estudo. **Valor Econômico**, 10 nov. 2021. Disponível em <https://valor.globo.com/agronegocios/noticia/2021/11/10/venda-de-insumos-biologicos-cresce-37-no-pais-diz-estudo.ghtml>. Acesso em: 18 jan. 2022.

SOUMARE, A.; DIEDHIOU, A. G.; THUITA, M.; HAFIDI, M.; OUHDOUCH, Y.; GOPALAKRISHNAN, S.; KOUISNI, L. Exploiting Biological Nitrogen Fixation: A Route Towards a Sustainable Agriculture. **Plants**, v. 9, n.8, 1011, 2020. DOI: 10.3390/plants9081011.

Contribuição do melhoramento genético da soja para o manejo de doenças e pragas

Carlos Alberto Arrabal Arias

Clara Beatriz Hoffmann Campo

Rafael Moreira Soares

Maurício Conrado Meyer

Introdução

O Brasil ocupa a posição de maior produtor mundial de soja. O monocultivo da cultura em grandes extensões de área e durante longo período de tempo, inclusive com semeadura de soja sobre soja, tem promovido o agravamento de problemas fitossanitários envolvendo pragas, doenças e plantas daninhas, além de promover mudanças significativas nos sistemas produtivos, gerando aumento nos custos de produção e redução da sustentabilidade de todo o sistema. Uma das formas para garantir o potencial e a estabilidade de produção das cultivares comerciais é através da resistência/tolerância genética contra doenças e pragas da soja, as quais representam importantes fatores restritivos para o rendimento, comprometendo a rentabilidade dos produtores pelas perdas ocorridas ou pelo aumento dos custos com o uso de defensivos. Embora não incluídas como um bioinsumo pelo Programa Nacional de Bioinsumos (Brasil, 2020), as tecnologias presentes nas cultivares de soja, geradas ao longo dos últimos anos, constituem verdadeiras ferramentas biológicas para o manejo dos principais problemas fitossanitários da cultura.

A resistência ou a tolerância genética expressa nas cultivares é uma das práticas mais eficientes, econômicas e seguras no controle de pragas e doenças, além de ser uma tecnologia limpa por não agredir o meio ambiente (Arias et al., 2001). O programa de melhoramento da Embrapa e seus parceiros tem mantido em suas cultivares a resistência genética a doenças importantes como a mancha olho-de-rã (*Cercospora sojina*), a pústula bacteriana (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*), o cancro da haste (*Diaporthe aspalathi*) e, mais recentemente, a podridão radicular de fitóftora (*Phytophthora sojae*). Essas características são bem trabalhadas pelas empresas obtentoras e, em geral, a resistência a essas doenças está presente na maioria das cultivares comerciais, promovendo o controle e reduzindo a importância relativa dessas doenças. Algumas plataformas transgênicas que envolvem a tecnologia Bt também oferecem proteção contra as principais lagartas da cultura da soja: lagarta-da-soja (*Anticarsia gemmatalis*), lagarta falsa-medideira (*Chrysodeixis includens*), lagarta-das-maçãs (*Chloridea virescens*) e broca-das-axilas ou broca dos ponteiros (*Crociosema aporema*), além de supressão às lagartas dos gêneros *Elasmo* (*Elasmopalpus lignosellus*) e *Helicoverpa* (*H. zea* e *H. armigera*). Apesar da grande contribuição dessas

características genéticas para a solução desses problemas fitossanitários, especial atenção será dada neste capítulo a outros problemas tais como a ferrugem-asiática, os nematoides e os percevejos em função dos seus potenciais impactos para a cultura.

A ferrugem-asiática é uma doença que infecta as folhas da soja provocando redução na capacidade de fotossíntese das plantas e consequente redução na produtividade de grãos (Yorinori et al., 2021). Os percevejos causam danos diretos nos grãos, atraso na maturação, retenção foliar e, além disso, também causam danos indiretos ao introduzir o aparelho bucal (estilete) para se alimentar, abrindo uma porta para entrada de microrganismos que podem acelerar a deterioração das sementes (Panizzi et al., 2012). Já os nematoides atacam as raízes da soja, prejudicando seu desenvolvimento e servindo de porta de entrada para outras doenças (Grigolli e Asmus, 2014). Assim, os três problemas têm alto potencial para redução da produtividade e qualidade dos grãos.

No caso da ferrugem-asiática, o custo anual apenas para o controle químico ultrapassa os R\$ 14 bilhões (Consórcio Antiferrugem, 2021) e estimativas indicam que as perdas anuais no Brasil provocadas por fitonematoides superam R\$ 16,5 bilhões (Favoreto et al., 2019). A perda anual por grãos avariados no Brasil é superior a R\$ 1,0 bilhão, sendo que 85% dos defeitos encontrados se devem aos percevejos (Lorini, 2019).

Entre as tecnologias presentes nas cultivares de soja geradas pela Embrapa e seus parceiros, destacam-se a resistência à ferrugem-asiática (tecnologia Shield[®]), a resistência aos principais nematoides da soja (cisto - RNC e galhas - RNG) e a tolerância aos percevejos (tecnologia Block[®]) que é exclusivamente desenvolvida pela Embrapa. A RNC e a RNG são essenciais para a sustentabilidade da soja em áreas com a presença dos nematoides, pois a resistência genética é o método mais eficiente e barato de controle. No caso das tecnologias Shield[®] e Block[®] (Embrapa, 2018; Embrapa, 2019a), os produtores são estimulados a monitorar tanto a ferrugem quanto os percevejos, para tomada de decisão mais segura e racional, adotando o controle químico dentro dos preceitos do manejo integrado de doenças (MID) e de pragas (MIP). Assim, aplicações desnecessárias de fungicidas e de inseticidas são evitadas, assegurando produtividade, colaborando no manejo da resistência aos produtos fitossanitários e reduzindo a contaminação ambiental e humana por esses produtos. Cultivares Block[®] ainda reduzem os descontos na comercialização e perdas na qualidade dos grãos armazenados decorrentes de danos provocados pelos percevejos, tornando o sistema de produção mais rentável e sustentável.

A seguir, será apresentado um relato de cada uma dessas soluções genéticas, as quais podem ocorrer de forma isolada ou combinada e com variações de incidência e severidade ao longo das diversas regiões edafoclimáticas brasileiras (RECs).

Ferrugem-asiática da soja

A ferrugem-asiática, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi*, tem sido a doença de maior atenção na cultura da soja desde a sua chegada ao Brasil há duas décadas, por apresentar elevado potencial de dano por meio de desfolha antecipada das plantas, podendo chegar a atingir 90% de redução da produtividade (Hartman et al., 2015; Yorinori et al., 2021). Seu agente causal é um fungo biotrófico obrigatório (só sobrevive e se multiplica em tecido vivo do hospedeiro), o que poderia lhe render uma desvantagem

competitiva, mas, por outro lado, ele é capaz de completar vários ciclos reprodutivos durante o ciclo da cultura da soja, gerando uma enorme quantidade de uredosporos (estruturas propagativas do fungo) que são eficientemente disseminados a longas distâncias pelo vento.

A edição do genoma de referência de três isolados monospóricos de *P. pachyrhizi* revelou que o seu tamanho varia entre 1,057Gb e 1,274 Gb (JGI, 2019), constituindo-se em um dos maiores genomas dentre os fitopatógenos conhecidos e proporcional ao tamanho do genoma da planta da soja, que é de 1,115 Gb (Schmutz et al., 2010). Cerca de 90% das sequências encontradas no genoma de *P. pachyrhizi* são constituídas por sequências repetitivas e DNA não codificante, abrangendo também várias famílias de transposons, o que confere ao patógeno uma grande capacidade de adaptação às adversidades impostas pelas medidas de controle da doença, principalmente a pressão de seleção para resistência a fungicidas e a quebra de resistência varietal da soja (Embrapa, 2019b; Godoy et al., 2020).

As estratégias de controle estão baseadas na adoção de medidas legislativas como as determinações estaduais de períodos de vazio sanitário e de calendarização da semeadura, no escape da doença com a semeadura de cultivares precoces no início do período de semeadura, no emprego de controle químico pela pulverização com fungicidas foliares e no uso de cultivares com genes de resistência (Godoy et al., 2020). A extrema capacidade de adaptação do patógeno o torna muito eficaz em sobrepor essas medidas de controle que, se não forem adotadas em conjunto e simultaneamente, não surtem efetividade de forma isolada.

A resistência genética de cultivares de soja à ferrugem-asiática é atualmente empregada pela introgressão de genes maiores denominados *Rpp*. O desenvolvimento de cultivares com a presença de um ou alguns genes *Rpp* vem sendo realizado principalmente pelos programas de melhoramento da Embrapa (tecnologia Shield®, Tabela 1) e pela Tropical Melhoramento e Genética (tecnologia Inox®), com 21 cultivares lançadas até o momento.

Dez genes *Rpp* ou alelos já foram identificados e mapeados em sete loci no genoma da soja, sendo eles o *Rpp1*, *Rpp2*, *Rpp3*, *Rpp4*, *Rpp5*, *Rpp6* e *Rpp7* (Bromfield; Hartwig, 1980; Mclean; Byth, 1980; Hartwig; Bromfield, 1983; Hartwig, 1986; Hyten et al., 2007; Monteros et al., 2007; Garcia et al., 2008; Silva et al., 2008; Chakraborty et al., 2009; Kim et al., 2012; Li et al., 2012; Childs et al., 2018).

A diferenciação entre cultivares resistentes e suscetíveis à ferrugem-asiática é feita pelo tipo de lesão produzida em cada uma. As cultivares suscetíveis apresentam lesões do tipo TAN (Figura 1-A e B), de coloração marrom-claro que produzem grande quantidade de urédias e uredosporos, aumentando rapidamente o número de lesões na folha, causando clorose e queda prematura da mesma. As cultivares resistentes apresentam lesões do tipo RB (*Reddish Brown*; Figura 1-C e D), de coloração castanho-avermelhada, de tamanho maior que as lesões TAN e com pouco ou nenhuma esporulação, o que permite que a folha não colapse como ocorre nas cultivares suscetíveis (Godoy et al., 2020).

A resistência conferida pelos genes *Rpp* não é do tipo imunidade, e a variabilidade genética do patógeno permite sobrepor esta resistência da planta em algum tempo, à medida que as populações resistentes de *P. pachyrhizi* se multipliquem e prevaleçam na região. Dessa forma, a aplicação de fungicidas continua sendo necessária também nas cultivares resistentes, visando conter ao máximo a proliferação de populações resistentes de *P. pachyrhizi*. Entretanto, considerando a efetividade dos genes *Rpp*, estas

Tabela 1. Cultivares de soja da Embrapa contendo soluções tecnológicas para o manejo de pragas, doenças e nematoides (RNC - resistência ao nematoide de cisto; RNG - resistência aos nematoides de galhas; Shield® - resistência à ferrugem-asiática e Block® - tolerância ao complexo de percevejos).

Cultivar	GM ¹	Macroregião de Indicação ²	RNC ³	RNG (Mj) ⁴	RNG (Mi) ⁵	Shield®	Block®
Cultivares Convencionais							
BRS 523	5.8	MR 1 e 2					X
BRS 539	6.1	MR 2		X		X	X
BRS 284	6.3 e 7.1	MR 1, 2, 3 e 4		X			
BRS 511	6.4 e 6.9	MR 1, 2, 3 e 4		X		X	
BRS 391	6.4	MR 2		X	X		X
BRS 317	6.6 e 7.1	MR 2, 3 e 4			X		
BRS 232	6.9 e 7.4	MR 1, 2, 3 e 4			X		
BRSMG 534	7.1	MR 3 e 4				X	
BRSMG 715A	7.1	MR 3	X	X			
BRS 531	7.3	MR 3 e 4	X			X	
BRS 7181	7.1	MR 3 e 4				X	
BRS 7381	7.3	MR 3 e 4				X	
BRS 7481	7.4	MR 3 e 4		X	X		
BRS 7483	7.4	MR 3 e 4				X	
BRS 7980	7.9	MR 3, 4 e 5	X	X	X		
BRS 8581	8.5	MR 3 e 4		X			
Cultivares RR							
BRS 433RR	5.8	MR 1, e 2		X			
BRS 543RR	6.0	MR 2					X
BRS 399RR	6.0 e 6.7	MR 1, 2, e 3	X	X	X		
BRS 7280RR	7.2	MR 3 e 4				X	
BRS 7380RR	7.3	MR 3 e 4	X	X	X		
BRS 7581RR	7.5	MR 3 e 4	X				
BRS 8182RR	8.1	MR 3 e 4				X	
BRS 8382RR	8.3	MR 3 e 4				X	
BRS 8781RR	8.7	MR 3, 4 e 5		X	X		
Cultivares IPRO							
BRS 1061IPRO	6.1	MR 2		X			
BRS 1001IPRO	6.2 e 6.9	MR 1, 2 e 3		X			
BRS 1003IPRO	6.3 e 7.0	MR 1, 2 e 3		X			X
BRS 1074IPRO	7.4	MR 2 e 3		X			
BRS 5980IPRO	6.1	MR 3 e 4	X	X			
BRS 7180IPRO	7.1	MR 3 e 4		X	X		
BRS 7470IPRO	7.4	MR 3 e 4		X			

¹Grupo de maturidade; ² Verificar as indicações específicas para cada cultivar dentro de sua região edafoclimática (REC, segundo a 3ª aproximação); ³Verificar junto ao obtentor as reações para diversas raças do nematoide de cisto *Heterodera glycines*; ⁴Mj= *Meloidogyne javanica*; ⁵Mi= *Meloidogyne incognita*.



Figura 1. Lesões do tipo TAN (A e B) de coloração marrom-claro, características de cultivares suscetíveis à ferrugem-asiática. Lesões do tipo RB - *Reddish Brown* (C e D) de coloração marrom-avermelhada, características de cultivares resistentes.

cultivares permitem a redução do número de pulverizações, com intervalos mais longos que os usados nas cultivares suscetíveis. Os benefícios de uma cultivar resistente com a tecnologia Shield® em relação a um padrão comercial suscetível, após uma, duas ou três aplicações com fungicidas podem ser vistos na Tabela 2, que mostra resultados de duas safras com ocorrência severa da ferrugem-asiática. A tecnologia Shield® conseguiu manter o rendimento de grãos, o peso de 100 grãos e o ciclo com uma única aplicação de fungicida. Para aumentar a eficiência dessa tecnologia, as cultivares resistentes não devem ser semeadas tardiamente, visando uma menor exposição às maiores pressões de inóculo observadas no final de cada safra (Embrapa, 2018; Godoy et al., 2020).

Por apresentarem características de retardar o progresso da ferrugem-asiática, as cultivares com genes *Rpp* são mais adequadas para uso em sistema de produção de soja orgânica ou com ênfase no controle biológico de doenças, observando-se as medidas de prevenção da quebra de resistência através da rotação de cultivares com diferentes genes *Rpp*, evitando-se semeaduras tardias e utilização de fungicidas permitidos nestes sistemas, sempre que necessário (Seixas et al., 2017).

Tabela 2. Comparativo de rendimento, peso de 100 grãos e número de dias para a maturação entre um padrão suscetível e a cultivar BRS 539 com a tecnologia Shield® após uma, duas ou três aplicações com fungicidas para o controle da ferrugem-asiática da soja, nas safras 2017/2018 e 2019/2020 em Londrina, PR.

Genótipo	Tratamento ¹	Rendimento (kg/ha)	Peso 100 grãos (g)	Dias para maturação
Safr 2017/2018				
Padrão Suscetível	T1	3610 b	14,5 b	112 b
	T2	4713 a	17,5 a	113 ab
	T3	4403 ab	17,5 a	114 a
BRS 539	T1	5019 a	18,8 a	111 a
	T2	4897 a	19,2 a	112 a
	T3	4383 a	18,5 a	114 a
Safr 2019/2020				
Padrão Suscetível	T1	3381 b	11,8 c	108 c
	T2	3999 a	13,9 b	111 b
	T3	4395 a	14,4 a	113 a
BRS 539	T1	4127 a	14,6 a	109 a
	T2	3592 a	14,8 a	112 a
	T3	3996 a	14,6 a	112 a

¹ T1 = uma única aplicação de Fox Xpro® (bixafen 62,5 g/ha + protriocanazol 87,5 g/ha + trifloxistrobina 75 g/ha) + Aureo® (0,5 L/ha) + Unizeb Gold® (mancozebe 1,5 kg/ha) em pré-fechamento das linhas de semeadura da soja; T2 = T1 + uma aplicação com Ativum® (piraclostrobina 65 g/ha + epoxiconazol 40 g/ha + fluxapiraxade 40 g/ha) + Assist® (0,5 L/ha) + Unizeb Gold® (mancozebe 1,5 kg/ha) aos 15 dias após a primeira aplicação; T3 = T1 + T2 + uma aplicação com Aproach Prima® (picoxistrobina 60 g/ha + ciproconazol 24 g/ha) + Nimbus® (0,75 L/ha) + Unizeb Gold® (mancozebe 1,5 kg/ha) aos 15 dias após a segunda aplicação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Nematoides de galhas e de cisto

Diversas espécies de nematoides atacam a cultura da soja e, no Brasil, os maiores danos à cultura são devidos aos nematoides de galhas (*Meloidogyne incognita*, *M. javanica*), nematoide de cisto da soja (*Heterodera glycines*), nematoide das lesões (*Pratylenchus brachyurus*) e nematoide reniforme (*Rotylenchulus reniformis*) (Dias et al., 2010).

O uso de cultivares resistentes é o método de manejo mais barato e eficaz para o controle dos nematoides, embora deva ser adotado em conjunto com outras medidas, como a rotação de cultura e o manejo adequado do solo. A redução da população dos nematoides no solo é o principal benefício da utilização de cultivares resistentes, uma vez que estas impedem ou reduzem a reprodução do patógeno em suas raízes. No germoplasma da soja não existem fontes de resistência para todos os nematoides e, até o presente momento, as fontes mais conhecidas e exploradas são para os nematoides de galhas (NGS) e o nematoide de cisto da soja (NCS).

O desenvolvimento de uma cultivar comercial de soja com resistência a nematoides pode ser demorado e trabalhoso. Atualmente, o trabalho foi simplificado e tornou-se mais ágil com a transferência da resistência para cultivares melhoradas, diminuindo a necessidade de utilizar como fonte de resistência germoplasmas selvagens, que apresentam algumas características indesejáveis. A incorporação da resistência é dificultada pela complexidade das bases genéticas que controlam o caráter, pela ocorrência de variabilidade interespecífica e intraespecífica nas populações de nematoides e pela dificuldade em se realizar a avaliação das linhagens segregantes com precisão e mais precocemente.

Embora boa parte dos programas brasileiros de melhoramento genético de soja ainda selecionem linhagens resistentes com base em avaliações fenotípicas, a tendência é que se passe a utilizar cada vez mais o mapeamento dos genes de resistência com marcadores moleculares e a utilização destas marcas na seleção indireta, aumentando a eficiência dos programas de melhoramento. Em soja, marcas de várias naturezas associadas a genes de resistência aos NGS e ao NCS já foram identificadas e disponibilizadas (Arias et al., 2001; Silva et al., 2001b; Fuganti et al., 2004; Passianotto et al., 2017; Alekcevetch et al., 2021).

- *Nematoide de Cisto da Soja*

O potencial de danos e a existência de várias raças fazem do NCS uma das doenças mais importantes da soja no Brasil e, embora existam algumas cultivares resistentes, a demanda atual é por cultivares com resistência às diversas raças. O problema com o NCS está presente em cerca de 150 municípios localizados em 10 Estados (MG, MT, MS, GO, SP, PR, RS, BA, TO e MA). Em áreas onde já foi detectado, o produtor tem que conviver com esse nematoide, uma vez que sua erradicação é praticamente impossível. Ainda é preciso considerar a evolução e a adaptação desse fitonematoide, uma vez que já foram encontradas 11 raças (1, 2, 3, 4, 4+, 5, 6, 9, 10, 14 e 14+) no País (Dias et al., 2010).

O sintoma característico de ocorrência do NCS em soja é a presença de plantas atrofiadas e cloróticas, com poucas vagens, e distribuídas em reboleiras na lavoura. Em locais onde a população do patógeno é muito alta, pode ocorrer morte prematura de plantas. Como esses sintomas não são causados exclusivamente pelo NCS, o diagnóstico definitivo deve ser realizado com base nos sinais do nematoide, que evidenciam a presença de fêmeas encistadas presas às raízes, de coloração branca ou amarela.

Após a detecção do NCS no Brasil na safra 1991/92, os programas de melhoramento genético de soja do país passaram a incorporar resistência nas cultivares, utilizando genótipos norte-americanos originados de Peking e/ou das PIs 88788, 90763 e 437654 (Hartwig) como fontes de resistência. Os primeiros resultados desse trabalho na Embrapa possibilitaram o lançamento das cultivares BRSMG Renascença e BRSMG Liderança, resistentes à raça 3, para Minas Gerais; BRSMG Preciosa, resistente à raça 3, para Minas Gerais, São Paulo, Goiás e Distrito Federal; BRSMG Robusta, resistente à raça 3, para Minas Gerais, Goiás, Distrito Federal, Mato Grosso e Bahia; BRSMT Pintado, BRSMT Tucunaré, BRSMT Caxara, BRSMT Matrinxã e BRSMT Piraíba, resistentes às raças 1 e 3, para Mato Grosso e BRSGO Chapadões (resistente às raças 1, 3, 4 e 14) e BRSGO Ipameri (resistente às raças 3 e 14) para Goiás (Dias et al., 2010). Diferentemente do ocorrido nos Estados Unidos, as primeiras cultivares resistentes brasileiras exibiram altas produtividades e, conseqüentemente, tiveram grande aceitação pelos sojicultores.

A base genética e a herança da resistência ao NCS em soja são complexas e ainda não completamente entendidas. Mais de 30 QTL (Quantitative Trait Loci) que controlam a resistência ao NCS foram relatados desde 1994 por mapeamento de ligação, com a maioria deles considerados apenas QTL de efeito menor (Concibido et al., 2004). Até o momento, apenas dois grandes alelos de resistência a NCS, *rhg1* e *Rhg4*, identificados em PI 88788 (*rhg1*) e Pequim (*rhg1 / Rhg4*), que residem nos cromossomos 18 e 8, respectivamente, têm sido amplamente usados para desenvolver cultivares resistentes (Tran et al., 2019). O número de cópias do *rhg1* tem sido classificado como alto (> 6 repetições, por exemplo na PI 88788) e baixo (3 repetições, por exemplo, na Peking) (Cook et al., 2012). De acordo com Yu et al. (2016), para *rhg1*, tanto o número de cópias como o tipo de polimorfismo são importantes para resistência ao NCS, sendo estas fontes de resistência com *rhg1*, com maior número de cópias, as que apresentam maior resistência. Também é frequente a ocorrência de ligação entre os alelos de resistência às diferentes raças (Hartwig e Young, 1986) e entre os locos de resistência e o alelo *i*, que controla a distribuição da cor do hilo no tegumento da semente, conferindo, em algumas combinações, a coloração preta ou marrom à semente (Yue et al., 2000).

- *Nematoides de Galhas da Soja*

Os NGS têm ocorrido de forma generalizada em todas as regiões sojícolas. Apesar de existirem várias espécies de *Meloidogyne* com habilidade em parasitar a soja, *M. incognita* e *M. javanica* são as mais limitantes à produção no Brasil. A primeira espécie predomina em áreas cultivadas anteriormente com café ou algodão, enquanto *M. javanica* tem ocorrência mais generalizada (Dias et al., 2010).

Nas lavouras de soja com a presença de NGS, são observadas reboleiras, onde as plantas ficam com porte baixo e amareladas. As folhas das plantas afetadas, normalmente, apresentam manchas cloróticas ou necroses entre as nervuras, caracterizando o sintoma conhecido como “folha carijó”. Às vezes, pode não ocorrer redução no tamanho da planta, mas por ocasião do florescimento, se observa intenso abortamento de vagens e amarelecimento prematuro da planta atacada. Em anos em que acontecem estiagens prolongadas, na fase de enchimento de grãos, os danos tendem a aumentar. Nas raízes das plantas parasitadas se observam galhas em número e tamanho variados, dependendo da suscetibilidade da cultivar, da densidade populacional do nematoide e das condições edafoclimáticas.

O uso contínuo de cultivares resistentes, aliado à rotação de culturas e ao tratamento químico de sementes, pode levar a população dos NGS a níveis aceitáveis para a melhor convivência com o problema, reduzindo as perdas de rendimento na cultura (Silva et al., 2020). A grande maioria das cultivares de soja resistentes aos NGS desenvolvidas no Brasil descende da cultivar norte-americana Bragg. Essa cultivar, no passado, foi muito semeada nos estados do Paraná, Mato Grosso do Sul, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. No entanto, a ocorrência de epidemias da doença mancha olho-de-rã, causada pelo fungo *Cercospora sojina*, limitou o cultivo de Bragg e, finalmente, o surgimento do cancro da haste, causado por *Diaporthe aspalathi* (sin. *D. phaseolorum* var. *meridionalis*), capaz de dizimar lavouras de cultivares suscetíveis, inviabilizou a semeadura da cultivar. Entretanto, ela continuou a ser muito utilizada em programas de melhoramento genético de soja e gerou alguns descendentes, como as cultivares BR-6 (Nova Bragg), BR-13 e ‘MG/BR-46’ (Conquista) (Silva, 2001). Essa última, com bons

níveis de resistência a *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. incognita*, foi durante muitos anos uma das cultivares de soja mais semeadas no Brasil Central.

Algumas fontes de resistência ao NCS, como Centennial, Forrest, Gordon, Kirby, Cordell e Leflore, dentre outras, também são resistentes a determinadas espécies de nematoides de galha (Silva, 2001). A resistência dessas cultivares é oriunda de Palmeto, um ancestral de Bragg (Ha et al., 2004). Assim, a partir de 1992, quando os programas brasileiros de melhoramento genético passaram a incorporar resistência ao NCS, começaram a surgir no País cultivares de soja com resistência aos dois gêneros dos fitonematoides.

A resistência de genótipos de soja a *Meloidogyne* spp., de modo geral, têm sido descrita como de herança quantitativa. Assim, a maioria dos trabalhos disponíveis relatam o efeito de vários genes menores independentes e com pequeno efeito aditivo, o que dificulta a transferência e a manutenção de genes de resistência em cultivares superiores. As estimativas de herdabilidade da resistência em geral são altas e, na maioria dos estudos, a seleção de plantas resistentes a partir de famílias F3 resulta em maior eficiência do que quando realizada em plantas individuais (Luzzi et al., 1995a; Luzzi et al., 1995b; Silva et al., 2001a).

Embora os modelos genéticos mostrem que a herança da resistência em soja aos NGS é complexa, incluindo vários efeitos genéticos não aditivos, como dominância, epistasia e interação genótipo por microambiente, a distribuição de frequências construída com a média das famílias F2:3 apresenta classes distintas de genótipos. Isso sugere a presença de poucos genes maiores determinando a resistência (Silva et al., 2001a; Fuganti et al., 2004; Passianotto et al., 2017; Alekcevetch et al., 2021). De fato, para a maioria dos casos, a resistência de genótipos de soja a nematoides do gênero *Meloidogyne* apresenta controle monogênico ou oligogênico (Boerma e Hussey, 1992; Passianotto et al., 2017; Alekcevetch et al., 2021).

- Tecnologias RNC e RNG presentes nas cultivares

Existem diversas cultivares de soja que são resistentes ou moderadamente resistentes ao NCS ou aos NGS, e estão à disposição dos agricultores brasileiros nas diferentes regiões produtoras (Tabela 1). Algumas dessas cultivares apresentam resistência aos dois gêneros de nematoides. Contudo, ainda há escassez de cultivares resistentes, adaptadas para todas as regiões de cultivo e/ou com todas as características desejadas pelo produtor, como, por exemplo, a resistência a herbicidas e a insetos.

O uso das tecnologias RNC e RNG causa impactos positivos dentro do manejo integrado de nematoides, não sendo a única, mas talvez a principal ferramenta de manejo do sistema, e que pode perfeitamente ser combinada com as medidas de controle biológico, descritas no Capítulo 20.

Percevejos sugadores

O complexo de hemíptero (Hemiptera: Heteroptera) sugadores de grãos de soja é composto por algumas espécies pertencentes ao grupo dos pentatomídeos, sendo as mais importantes *Euschistus heros*, *Diaceraeus* (*Dichelops*) spp., *Piezodorus guildinii* e *Nezara viridula*. As quatro espécies são neotropicais, mas a sua abundância estacional e a distribuição geográfica têm se modificado ao longo de algumas décadas de expansão da soja no País. Os dois primeiros são os mais importantes e têm sido observados com maior frequência no sistema soja-milho (Bueno et al., 2015).

O popularmente conhecido como percevejo-marrom, *E. heros*, que era raramente observado na década de 1970, tem sido o mais abundante atualmente, atingindo mais de 90% de participação no complexo de percevejos sugadores de grãos, e ocorrem em quase todas as regiões produtoras de soja, com maior incidência desde o Paraná até o Maranhão (Corrêa-Ferreira et al., 2009; Panizzi et al., 2012).

Os percevejos do gênero *Diaceraeus* são exclusivamente neotropicais e podem ser encontrados em diversos países da América do Sul, onde são pragas importantes de milho, mas dependendo do sistema de cultivo podem causar danos em soja (Panizzi et al., 2012). *Diaceraeus melacanthus* é a espécie mais frequentemente observada em lavouras de soja na região Norte do Paraná até o Centro-Oeste brasileiro e, *D. furcatus* é mais comum no sul do Brasil (Sosa-Gómez et al., 2014).

A ocorrência de *P. guildinii* (percevejo-verde-pequeno) e *N. viridula* (percevejo-verde) diminuiu muito na região Sudeste (Tuelher et al., 2016), mas tem sido mais frequente nas regiões mais frias do país (Panizzi et al., 2012). O percevejo-verde-pequeno representava 75% (safra 2006/2007) e 30,4% (safra 2007/2008) do total de percevejos da soja em monitoramentos realizados em Santa Maria, RS por Kuss (2009). Entretanto sua frequência em Londrina, PR, na safra 2012 não ultrapassou 5% (Kuss-Roggia et al., 2012) e, atualmente, permanece em patamares baixos.

Os danos causados pelos percevejos à soja são irreversíveis, pois afetam o produto final, influenciando negativamente o rendimento de grãos e a qualidade, viabilidade e vigor das sementes (Panizzi et al. 2012), além de causar alterações nos teores de proteína e óleo. Quando atacam no início do período reprodutivo, provocam abortamento de vagens, grãos enrugados, chochos e coloração mais escura que o normal (Corrêa-Ferreira e Panizzi, 1999), assim como, podem retardar a maturação das plantas pela retenção foliar e hastes verdes, retardando e dificultando a colheita. Dentre as espécies mais comuns que danificam a soja, *P. guildinii* é o mais prejudicial à cultura (Corrêa-Ferreira e Azevedo, 2002; Depieri e Panizzi, 2011; Husch et al., 2012, Tuelher et al., 2016), principalmente, por causar uma lesão mais acentuada nas paredes celulares das vagens, provocada pelo seu estilete ao se alimentar (Depieri e Panizzi, 1999).

O nível de dano econômico (NDE) é definido pela menor população de percevejos que, se não for controlada, é capaz de causar quebra de rendimento e prejuízo econômico, (Stern et al., 1959). Entretanto, para prevenir perdas de produtividade é recomendável evitar que a população do inseto atinja o NDE, iniciando-se o manejo das pragas no limiar econômico de dano, ou seja, o momento correto para iniciar as medidas de controle das pragas (Pedigo et al., 1986; Procopy et al., 2003; Bueno et al., 2013). Em estudos realizados no Brasil, com cultivares de soja de hábito de crescimento determinado, nas décadas 1970-1990 (Panizzi et al., 1977; Gazzoni e Oliveira, 1984, Villas-Boas et al., 1990) e confirmada para aquelas mais utilizadas na atualidade com hábito crescimento indeterminado (Bueno et al., 2013), o limiar econômico é de dois percevejos por metro de linha de soja para lavouras comerciais e um para produção de semente. Para a determinação dos limiares ou níveis de ação, as populações de percevejos devem ser monitoradas pelo método do pano de batida (Seixas et al., 2020).

Apesar de ocorrerem em lavouras desde o estágio vegetativo e de florescimento da soja, o período crítico de danos dos percevejos à cultura ocorre a partir do desenvolvimento das vagens até a completa formação de grãos (Corrêa-Ferreira e Azevedo, 2002). Em geral, o controle de percevejos sugadores na cultura da soja é baseado na pulverização calendarizada de inseticidas químicos, usualmente utilizado

sem critérios técnicos baseados em monitoramento adequado de pragas nas lavouras, sendo aplicado em populações reduzidas, sem necessidade de controle. Dessa forma, além da morte dos poucos hospedeiros (percevejo) na área, ocorre a supressão dos inimigos naturais que, dependendo do princípio ativo utilizado podem morrer, ou ficar sem alimento (predadores) ou substrato para desenvolvimento e alimentação (parasitoides). Isso desencadeia aumento das populações da praga e, conseqüentemente, o aumento do número de pulverizações. Esse uso excessivo dos inseticidas, cujos princípios ativos são baseados em poucas moléculas, aditivamente pode provocar o surgimento de populações de percevejos resistentes a estes produtos (Sosa-Gómez e Omoto, 2012).

Além de considerar a elevação nos custos de produção ocasionada pelas pulverizações desnecessárias e em excesso, a forte dependência de produtos químicos resulta também em custos ambientais. A resistência/tolerância da soja a percevejos torna-se uma alternativa muito interessante para ser integrada ao controle químico e biológico, principalmente quando se considera o melhoramento genético cuja tecnologia é embarcada na planta.

A resistência hospedeira ou resistência de plantas caracteriza-se pelos atributos herdados geneticamente manifestados pelas plantas que após serem danificadas pelas pragas, sofrem menor efeito negativo que outras, consideradas suscetíveis (Painter, 1951; Baldin et al., 2019). Genótipos com resistência a insetos podem ser obtidos pelo método de melhoramento vegetal, ou seja, pelo cruzamento tradicional de dois ou mais materiais e, no caso de lagartas, utilizando-se marcadores moleculares para realização de seleção assistida (Sosa-Gómez et al., 2012).

A resistência de plantas a insetos foi classificada por Painter (1951) em três mecanismos, a antibiose, a não-preferência (mais tarde denominada antixenose por Kogan e Ortman, 1978) e a tolerância. A antibiose e a antixenose são definidas como os tipos de resistência em que a planta apresenta pelo menos uma característica que afeta negativamente a biologia do inseto, ou que os mantém afastados, envolvendo respostas do inseto e da planta (Peterson et al., 2017). No caso da tolerância existe apenas a resposta da planta, o inseto não é afetado e pode, inclusive, ocorrer em população alta, o que representa uma vantagem, em relação aos demais tipos de resistência.

Desde o início de suas atividades de pesquisa em 1977, os pesquisadores da Embrapa Soja têm se dedicado a estudos relacionados à resistência de plantas a estresses bióticos, como uma alternativa sustentável para o controle de insetos, principalmente de lagartas e percevejos. Com a liberação no Brasil de cultivares transgênicas, resistentes a algumas lagartas, a prioridade passou a ser o desenvolvimento de genótipos resistentes a percevejos, que se tornaram os insetos-praga mais importantes da cultura da soja, na maioria das regiões tropicais brasileiras.

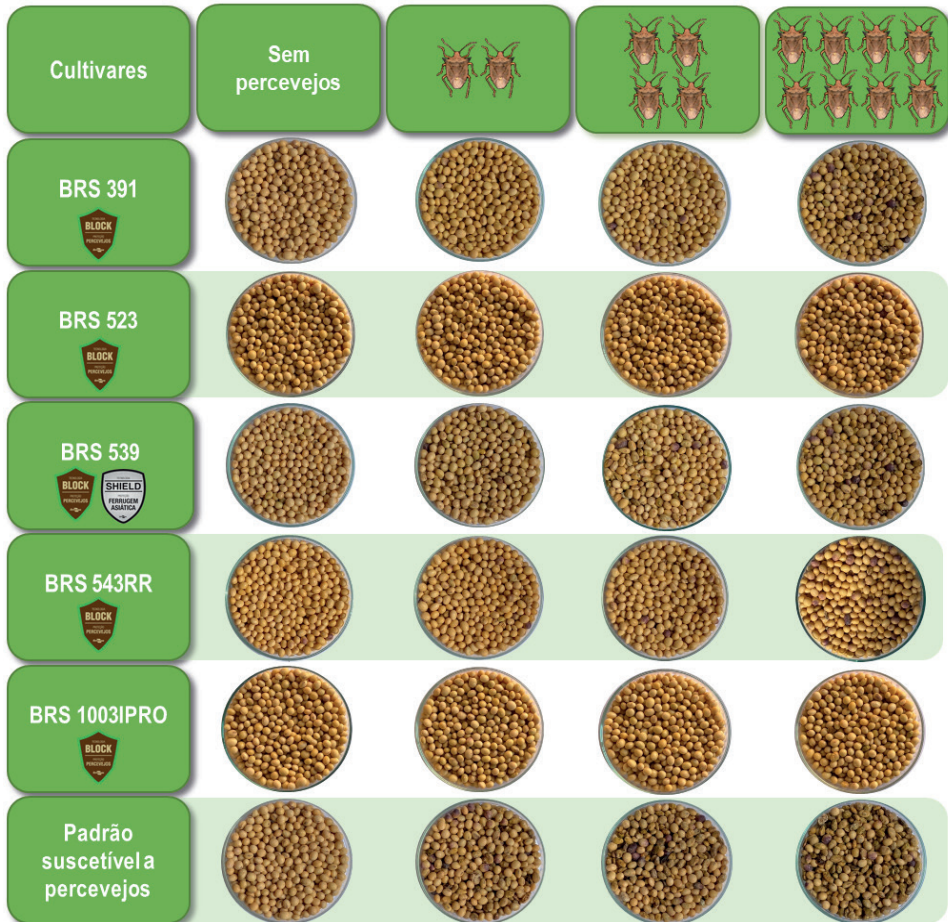
O grande desafio ao melhoramento genético da soja para o desenvolvimento de cultivares com resistência a insetos, doenças e fitonematoides tem sido conciliar essa, com as demais características agrônômicas desejáveis numa cultivar comercial, como produtividade, precocidade, altura adequada de plantas e de inserção de vagens, resistência ao acamamento, qualidade de sementes, equilíbrio entre os teores de óleo e proteínas, qualidade para alimentação humana e animal, etc. É preciso ainda considerar que a inserção de elevado nível de resistência manifestada pela presença de toxinas, outros antinutricionais e repelentes, pode comprometer em algum grau o rendimento das plantas por afetar o balanço energético.

As linhagens desenvolvidas no passado apresentavam nível maior de resistência (antibiose/antixenose), mas com rendimentos não compatíveis com os anseios dos agricultores. Dessa forma, foi priorizada a alta rentabilidade sendo realizados cruzamentos das linhagens que apresentavam resistência a pragas com outras sem essa característica, mas altamente produtivas. O resultado foi o desenvolvimento de genótipos tolerantes ao ataque de percevejos e produtivos, dando origem a tecnologia denominada Block®, que concilia as características agrônomicas desejáveis e apresenta baixa retenção foliar e grãos pouco danificados por percevejos. Na Figura 2 pode ser observada a qualidade dos grãos das cultivares com tecnologia Block®, que se desenvolveram no campo com populações definidas de adultos *E. heros* em comparação com uma cultivar testemunha de mesmo ciclo e alta produtividade.

Os genótipos de soja resistentes a percevejos são desenvolvidos por um complicado processo poligênico com predominância de efeitos aditivos e obtidos por seleção indireta, ou seja, baseada em parâmetros como peso de grãos (rendimento), retenção foliar e hastes verdes (RF), peso de sementes boas (PSB) e porcentagem de sementes boas (%SB) (Souza e Toledo, 1995). Godoi e Pinheiro (2009) utilizaram outros parâmetros como período de enchimento de grãos ($h^2_r=36$), retenção foliar ($h^2_r=20\%$), sementes manchadas ($h^2_r=20\%$) e porcentagem de danos em vagens ($h^2_r=50\%$) para a seleção de genótipos resistentes.

As cultivares com tecnologia Block® têm em sua genealogia a PI 274454, uma das plantas introduzidas (PIs) selvagens, oriundas dos centros de origem de *Glycine max*, como o Japão. Essa PI foi também utilizada nos cruzamentos que deram origem à IAC-100, que foi a primeira cultivar de soja resistente a insetos, inclusive percevejos, lançada no Brasil (Rossetto et al., 1990; Veiga et al., 1999). A PI 274454 juntamente com outras como a PI 227687, PI 229358 e PI 171451 foram testadas para vários importantes insetos desfolhadores da soja como *Anticarsia gemmatilis* (Beach e Todd, 1987; Lambert e Killen, 1984), *Spodoptera* spp. e *Chrysodeixis (Pseudoplusia) includens* (Killen et al., 1977). Essas PIs foram também, testadas em insetos sugadores de grão como *N. viridula*, *Euschistus* spp. e *Acrosternum hilare* (Jones Jr e Sullivan, 1979). As PI 227687, PI 274454 e IAC 100 possuem concentrações mais altas de metabólitos de defesa, como os flavonoides que conferem resistência a diferentes insetos-pragas da soja (Hoffmann-Campo et al., 2001; Piubelli et al., 2003; Graça et al., 2016; Vieira et al., 2016), em comparação às linhagens descendentes e as cultivares testemunhas para ciclo e produtividade. Como os metabólitos de defesa não fazem parte do metabolismo primário essencial ao desenvolvimento das plantas, eram denominados secundários. Entretanto, mais recentemente têm sido denominados metabólitos especializados, considerando que a nova terminologia é mais adequada e condizente com a importância desses compostos para a defesa das plantas (Ferrer et al., 2008; Pichersky; Lewinsohn, 2011).

Como a herança para resistência a insetos é complexa, de caráter poligênico e com predominância de efeitos aditivos (Souza e Toledo, 1995; Godoi e Pinheiro, 2009), exigiu-se muito tempo de pesquisa para o lançamento de cultivares com característica de resistência a insetos. O programa de melhoramento para resistência a insetos da Embrapa Soja tem trabalhado com grandes populações para possibilitar o aparecimento das combinações gênicas que contemplem todas as exigências nas futuras linhagens e cultivares. Sendo assim, a seleção recorrente foi necessária e foi difícil encontrar linhagens com elevado nível de resistência e alto potencial produtivo em um único ciclo de recombinação e seleção (Sosa-Gómez et al., 2012), contendo ainda todas as características agrônomicas adequadas.



Fotos: Clara B. Hoffmann-Campo (grãos) e Paulo R. S. Pereira (percevejos)

Figura 2. Grãos de soja de cultivares com tecnologia Block[®], Block[®] e Shield[®] (BRS 539), e de uma cultivar padrão de suscetibilidade a percevejos, mantidas no campo por 30 dias em gaiolas teladas, na ausência de *Euschistus heros* ou com população de dois, quatro ou oito percevejos/m².

A irregularidade da distribuição das populações e, conseqüentemente, dos danos dos percevejos, foi outro problema importante enfrentado pelos pesquisadores e que pode comprometer os resultados de testes de resistência realizados no campo experimental (Arias et al., 1999), principalmente quando envolvem número elevado de genótipos. Para isso, foi desenvolvido um protocolo para a seleção de linhagens de soja tolerantes a percevejos sugadores de grãos, que permitiu testar elevado número de genótipos de diferentes ciclos de maturação por três safras consecutivas (Hoffmann-Campo et al., 2018). Para isso, foi adotado o delineamento em blocos incompletos e, com base na distribuição da ocorrência dos percevejos sugadores no período observado (R4-R8). As três semanas de incidência mais elevada de percevejos foram selecionadas para elaborar diagramas de dispersão entre o número de insetos na parcela e os componentes de produtividade, qualidade de sementes, grãos comercializáveis e retenção

foliar. Dessa forma, foi possível selecionar genótipos com mérito para compor o portfólio Block® e cinco cultivares foram registradas no MAPA para produção comercial de soja: BRS 391, BRS 523 e BRS 539 (não OGMs), BRS 543RR e BRS 1003IPRO. A BRS 539 recebeu também o selo Shield®, ou seja, é também tolerante à ferrugem-asiática da soja.

Estudos realizados no campo na Embrapa Soja mostraram que cultivares Block® não impõem importantes efeitos negativos na sobrevivência, peso de adultos e tempo de desenvolvimento de *E. heros*. Em laboratório, Lucini et al. (2021) também não observaram efeito negativo nos parâmetros biológicos e reprodutivos dos percevejos alimentados com as cultivares resistentes/tolerantes BRS 391, BRS 543RR e BRS 1003IPRO. Entretanto, em ensaios com eletroantenograma, os insetos permaneceram menor tempo se alimentando e apresentaram provas (probes) com laceração/maceração, sem ingestão de conteúdo celular nas cultivares resistentes/tolerantes, em relação à cultivar suscetível (Lucini et al., 2021). Assim, baseados nos dados obtidos até então, é possível sugerir que as cultivares Block® não apresentam importante efeito de antibiose sobre *E. heros*, mas baixa preferência alimentar e danos superficiais. Além disso, várias safras de estudos realizados na Embrapa Soja indicam que as cultivares são tolerantes aos danos de percevejos pois apresentam maior rendimento e qualidade de sementes, além de menor retenção foliar e hastes verdes quando comparadas com cultivares padrões para produtividade e ciclo, nas mesmas condições populacionais e ambientais (Arias et al., 2018; Hoffmann-Campo et al., 2019).

Até um passado recente, considerava-se que idealmente as cultivares desenvolvidas pelo sistema de melhoramento genético tradicional, deveriam ser portadoras de imunidade, ou seja, causar o maior número possível de mortes das pragas, comparáveis às mortes causadas pelas cultivares geneticamente modificadas (GM) que expressam a toxina do *Bt*, (*Bacillus thuringiensis*). Entretanto, nesse último caso, a alta pressão de seleção, com exposição das populações à alta concentração de toxinas *Bt*, requerem atenção (Sosa-Gómez; Omoto, 2012). Danos de *Rachiplusia nu* e *Crociosema aporema* em cultivares de soja *Bt* que expressam a toxina Cry1Ac e tolerância ao glifosato foram observados na safra 2020/2021, no Brasil, (Horikoski et al., 2021; Sosa-Gómez e Bueno, 2021). Isso indica que, quanto mais alta a pressão de seleção, mais rápido é o processo de desenvolvimento de resistência dos insetos aos produtos químicos, sejam eles inerentes da planta ou geneticamente modificados. Como na maioria das vezes a defesa das plantas ao ataque de pragas é manifestado pela alta concentração dos metabólitos especializados (aleloquímicos), com alta mortalidade de pragas, o mesmo processo observado nas cultivares *Bt*, pode ocorrer em cultivares desenvolvidas para resistência a insetos.

As plantas tolerantes se apresentam como alternativas importantes pela habilidade de resistir ou se recuperar do ataque de pragas, mantendo o seu crescimento e compensação fisiológica, podendo suportar grande número de herbívoros sem interferir no seu desempenho produtivo (Kock et al., 2016). Assim, dentre as categorias de resistência, a tolerância tem vários atributos interessantes que a torna tática adequada ao MIP em sistemas agrícolas sustentáveis (Kennedy et al., 1987; Mitchell et al., 2016; Pedigo e Rice, 2006; Pedigo e Higley, 1992). Esse tipo de resistência não afeta a biologia e/ou o comportamento do inseto (Smith, 2005) e, assim, as pragas não desenvolvem resistência às plantas tolerantes (Peterson et al., 2017), pois limitam a possibilidade de seleção de populações mais invasivas ou o desenvolvimento de biótipos mais agressivos (Kock et al., 2016). Dessa forma, a tolerância é uma tática adequada ao manejo

integrado de pragas e perfeitamente compatível com o controle biológico mantendo algumas presas sem apresentar efeito negativo importante no desenvolvimento dos inimigos naturais. Alguns compostos químicos (metabólitos especializados) constitutivos das plantas hospedeiras podem ser prejudiciais também ao desenvolvimento de parasitoides e predadores ou afetar a sua eficiência no controle das pragas.

Tecnologias combinadas nas cultivares

A busca pela máxima produtividade exige o uso massivo de tecnologia e seu sucesso depende em muito das ofertas ambientais. Os agricultores mais tecnificados vem atualmente concentrando esforços para atingir a máxima rentabilidade, buscando aumentar sua produtividade, mas também, reduzir seus custos de produção. Essa estratégia está totalmente alinhada com a busca da sustentabilidade do sistema exigida por toda a cadeia produtiva, especialmente pelos mercados interno e externo e pela sociedade em geral.

A obtenção de alta produtividade sem considerar a presença de fatores bióticos e abióticos restritivos já é um grande desafio. Entre os fatores bióticos que restringem a produtividade e/ou a qualidade dos grãos produzidos, os problemas ligados aos fitonematoides, à ferrugem-asiática e aos percevejos, em foco neste capítulo, frequentemente ocorrem de forma combinada nas lavouras de soja e aumentam a complexidade do problema para os agricultores. Assim, em áreas com a presença das duas principais espécies dos NGS, a cultivar precisará combinar essas duas resistências para poder expressar seu potencial produtivo. Para esse caso, a Embrapa já tem disponível cultivares com diferentes grupos de maturidade com indicação para essas regiões alvo para as três plataformas genéticas (convencional, RR e IPRO), tais como BRS 391 (Block[®]), BRS 7481, BRS 7980, BRS 399RR, BRS 7380RR, BRS 878IRR e BRS 7180IPRO. A complexidade pode ser ainda maior se, além dos NGS, também tivermos a presença do NCS. Nesse caso, as opções de cultivares a serem utilizadas como ferramentas de manejo do NGS ficam mais restritas às cultivares BRS 7980, BRS 399RR e BRS 7380RR (Tabela 1).

No planejamento da safra, os agricultores algumas vezes precisam posicionar algumas cultivares em épocas de semeadura mais tardias, seja em função do escalonamento da semeadura ou por exigência de sucessão/rotação no sistema, ou ainda por condições ambientais restritivas, favorecendo a ocorrência mais severa de algumas doenças como a ferrugem-asiática e de pragas como o complexo de percevejos sugadores. Entre as cultivares com pacote tecnológico mais apropriado para esse tipo de demanda, destaca-se a BRS 539 a qual apresenta a combinação inédita entre as tecnologias Shield[®], Block[®] e RNG, servindo como uma poderosa ferramenta para auxiliar o manejo sustentável destes problemas; a BRS 511 e a BRS 531 que combinam Shield[®] com RNG e RNC, respectivamente; e as cultivares BRS 1003IPRO e BRS 391 que combinam as tecnologias Block[®] e RNG (Tabela 1).

Estes são apenas alguns exemplos de como o programa de desenvolvimento de cultivares de soja da Embrapa vem buscando desenvolver soluções mais completas e adequadas para alguns dos problemas complexos que se apresentam aos agricultores de vários estados brasileiros. Grande parte dos 40,4 milhões de hectares cultivados com soja no Brasil (Conab, 2022), estão sendo atendidos (safra 2021/22) por esse conjunto de cultivares beneficiando praticamente todos os estados brasileiros que cultivam soja. Esses agricultores poderão se beneficiar tanto pela maior facilidade e eficiência no manejo fitossanitário, com redução de custos de produção, quanto pelo aumento da produtividade e redução dos descontos na

comercialização dos grãos e, portanto, garantia de receita, buscando a almejada máxima rentabilidade, mas com sustentabilidade.

As tecnologias Shield[®], Block[®], RNC e RNG são ferramentas de manejo simples e baratas, pois já vêm embarcadas na semente, sem cobrança de royalties e/ou taxa tecnológica. Elas representam maior segurança à adoção do controle biológico de pragas e doenças da soja, por agregarem maior estabilidade produtiva. Além disso, nos casos da Shield[®] e Block[®], há redução dos custos de produção pelo incentivo ao uso do manejo integrado de doenças (MID) e de pragas (MIP), demandando menos aplicações de fungicidas e inseticidas químicos. Portanto, todas estas biotecnologias inseridas na semente da soja têm o mesmo objetivo dos bioinsumos, na busca por sustentabilidade do sistema de produção agrícola, tornando-o mais eficiente através da redução de custos de produção e aumento da produtividade.

Referências

- ALEKCEVETCH, J. C.; PASSIANOTTO, A. L.; FERREIRA, E. G. C.; SANTOS, A. B.; SILVA, D. C. G.; DIAS, W. P.; BELZILE, F.; ABDELNOOR, R. V.; MARCELINO-GUIMARAES, F.C. Genome-wide association study for resistance to the *Meloidogyne javanica* causing root-knot nematode in soybean. *Theoretical and Applied Genetics*, v.134, p.777-792, 2021. DOI:10.1007/s00122-020-03723-9
- ARIAS, C. A. A.; ALMEIDA, A. M. R.; ABDELNOOR, R. V.; SILVA, J. F. V.; MARTINS, M. K.; MARIN, S. R. R.; JUNG, R.; BROGIN, R. L.; DIAS, W. P.; KIHHL, R. A. S. Identificação de marcadores moleculares ligados a genes de resistência a doenças. **Resultados de Pesquisa da Embrapa Soja 2000:** ecofisiologia e biologia molecular. Londrina: Embrapa Soja, 2001, p.28-31. (Documentos. Embrapa Soja, 164).
- ARIAS, C. A. A.; TOLEDO, J. F. F.; GAZZONI, D. L.; HOFFMANN-CAMPO, C. B. Desenvolvimento de germoplasma de soja resistente a insetos. in: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Resultados de Pesquisa da Embrapa Soja 1998.** Londrina, 1999. p. 145-148.
- ARIAS, C. A. A.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; LOPES, I. O. N. Auxílio da genética. **Cultivar: Grandes Culturas, Pelotas** n° 229, p. 12-14, 2018.
- BEACH, R. M.; TODD, J. H. Resistance of the soybean breeding lines GATHIR 81-296 to foliar feeding by three *Spodoptera* spp. **Journal of Agricultural Entomology**, v. 4, p. 193-199, 1987.
- BEACH, R. M.; TODD, J. H. Foliage consumption and development parameter of the soybean looper and velvetbean caterpillar (Lepidoptera: Noctuidae) reared on susceptible and resistant soybean genotypes. **Journal of Economic Entomology**, v. 81, p. 310-316, 1988.
- BOERMA, H. R.; HUSSEY, R. S. Breeding plants for resistance to nematodes. **Journal of Nematology**, v.24, p.242-252, 1992.
- BRASIL. Decreto nº 10.375, de 26 de maio de 2020. Institui o Programa Nacional de Bioinsumos e o Conselho Estratégico do Programa Nacional de Bioinsumos. **Diário Oficial da União**, 27 mai. 2020. Edição 105, seção 1, p. 100. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/decreto-n-10.375-de-26-de-maio-de-2020-258706480>. Acesso em: 17 jan. 2022.
- BROMFIELD, K. R.; HARTWIG, E. E. Resistance to soybean rust and mode of inheritance. **Crop Science**, v. 20, p. 254-255, 1980.
- BUENO, A. F.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; ROGGIA, S.; BIANCO, R. Silenciosos e daninhos. **Revista Cultivar: Grandes Culturas**, v. 6, p. 25-27, 2015.
- CHAKRABORTY, N.; CURLEY, J.; FREDERICK, R. D.; HYTEN, D. L.; NELSON, R. L.; HARTMAN, G. L.; DIERS, B. W. Mapping and confirmation of a new allele at *Rpp1* from soybean PI 594538A conferring RB lesion type resistance to soybean rust. **Crop Science**, v. 49, p. 783-790, 2009.
- CHILDS, S. P.; KING, Z. R.; WALKER, D. R.; HARRIS, D. K.; PEDLEY, K. F.; BUCK, J. W.; LI, Z. Discovery of a seventh Rpp soybean rust resistance locus in soybean accession PI 605823. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 131, p.27-41, 2018.
- CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira - grãos: Quarto levantamento, janeiro 2022 - safra 2021/2022.** Disponível em: https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/gaos/boletim-da-safra-de-graos/item/download/40828_0bad57072b38a160412f36392313de55. Acesso em: 14 jan. 2022.
- CONCIBIDO, V. C.; DIERS, B. W.; ARELLI, P. A decade of QTL mapping for cyst nematode resistance in soybean. **Crop Science**, v. 44, p.1121-1131, 2004.

- CONSÓRCIO ANTIFERRUGEM, **parceria público-privada no combate à ferrugem asiática da soja - Safra 2018/19**. Organização: Embrapa Soja, Londrina, PR - Disponível em: http://acacia.cnpsa.embrapa.br:8080/cferrugem_files//764411951/Tabela_resumo_ferrugem_atual.pdf. Data de acesso: 22 de abril de 2021.
- COOK, D. E.; LEE, T. G.; GUO, X.; MELITO, S.; WANG, K.; BAYLESS, A. M.; WANG, J.; HUGHES, T. J.; WILLIS, D. K.; CLEMENTE, T. E.; DIERS, B. W.; JIANG, J.; HUDSON, M. E.; BENT, A. F. Copy number variation of multiple genes at *Rhg1* mediates nematode resistance in soybean. *Science*, v. 338, p.1206-1209, 2012.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S.; AZEVEDO, J. Soybean seed damage by different species of stink bugs. *Agricultural and Forest Entomology*, v. 4, p. 145-150, 2002.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S.; KRZYZANOWSKI, F. C.; MINAMI, C. **Percevejos e a qualidade da semente de soja - série sementes**. Londrina: Embrapa Soja, 2009. 15 p. (Embrapa Soja. Circular técnica, 67)
- CORRÊA-FERREIRA B. S.; PANIZZ, A. R. **Percevejos da soja e seu manejo**. Londrina: Embrapa Soja, 1999. 45 p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 24).
- DIAS, W. P.; ASMUS, G. L.; SILVA, J. F. V.; GARCIA, A.; CARNEIRO, G. E. Nematoides. In: ALMEIDA, A.M.R.; SEIXAS, C.D.S. (Eds.) **Doenças radiculares e de hastes e inter-relações com o manejo do solo e da cultura**. Londrina: Embrapa Soja, 2010. Cap.7, p.173-206.
- EMBRAPA. **Tecnologia Shield** - Proteção Ferrugem Asiática. Londrina: Embrapa Soja, 2018. 1 fôlder. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/172097/1/Shield-OL-final.pdf>. Acesso em 14 jan. 2022.
- EMBRAPA. **Tecnologia Block** - Proteção Percevejos. Londrina: Embrapa Soja, 2019a. Folder 04. Disponível em: https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/199228/1/folder_block.pdf. Acesso em 24 jan. 2022.
- EMBRAPA. O genoma altamente complexo do fungo *P. pachyrhizi* causador da mais devastadora doença da soja foi decifrado por um consórcio único de empresas públicas e privadas. **Nota Técnica**. Londrina: Embrapa Soja, 2019b. Disponível em: https://www.embrapa.br/documents/1355202/1529289/Nota_t%C3%A9cnica_Genoma_Ferrugem.pdf/804822e1-b87f-99b8-1db0-2417d91f8324. Acesso em: 14 jan. 2022.
- FAVORETO, L.; MEYER, M. C.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; MACHADO, A. C. Z.; SANTIAGO, D. C.; RIBEIRO, N. R. Diagnose e manejo de fitonematoides na cultura da soja. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 40, n. 306, p.18-29, 2019.
- FERRER, J.; AUSTIN, M. B.; STEWART JR., C.; NOEL, J. P. Structure and function of enzymes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 46, n.3, p. 356-370, 2008.
- FUGANTI, R.; BENEVENTI, M. A.; SILVA, J. F. V.; ARIAS, C. A. A.; MARIN, S. R. R.; BINNECK, E.; NEPOMUCENO, A. L. Identificação de Marcadores Moleculares de Microssatélites para Seleção de Genótipos de Soja Resistentes a *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, v.28, p.125-130, 2004.
- GARCIA, A.; CALVO, E. S.; SOUZA-KIHL, R.; HARADA, A.; HIROMOTO, D. M.; VIEIRA, L. G. Molecular mapping of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) resistance genes: Discovery of a novel locus and alleles. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 117, p. 545-553, 2008.
- GAZZONI, D. L.; OLIVEIRA, E. B. Soybean insect pest management in Brazil: I Research Effort, II Programme Implementation. In: Matteson, P.C. (ed.) **Proceedings of International Workshop on Integrated Pest control of Grain Legumes**. Embrapa, Goiania, Brazil, pp. 312-325, 1984.
- GODOI, C. R. C.; PINHEIRO, J. B. Genetic parameters and selection strategies for soybean genotypes resistant to the stink bug-complex. **Genetics and Molecular Biology**, v. 32 (2), 2009. DOI: 10.1590/S1415-47572009000200020
- GODOY, C. V.; SEIXAS, C. D. S.; SOARES, R. M.; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C.; MEYER, M. C.; COSTAMILAN, L. M. Asian soybean rust in Brazil: past, present, and future. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 51, n. 5, p. 407-421, 2016.
- GODOY, C. V.; SEIXAS, C. D. S.; MEYER, M. C.; SOARES, R. M. **Ferrugem-asiática da soja: bases para o manejo da doença e estratégias antirresistência**. Londrina: Embrapa Soja, 2020. 39 p. (Embrapa Soja. Documentos, 428).
- GRAÇA, J. P.; UEDA, T. E.; JANEGITZ, T.; VIEIRA, S. S.; SALVADOR, M. C.; OLIVEIRA, M. C.N.; ZINGARETTI, S. M.; POWERS, S. J.; PICKETT, J. A.; BIRKETT, M.A.; HOFFMANN-CAMPO, C.B. The natural plant stress elicitor *cis*-jasmonone causes cultivar-dependent reduction in growth of the stink bug, *Euschistus heros* and associated changes in flavonoid concentrations in soybean, *Glycine max*. **Phytochemistry**, v. 131, p. 84-91, 2016.
- GRIGOLLI, J. F. J.; ASMUS, G. L. Manejo de nematoides na cultura da soja. In: LOURENÇÃO, A. L. F.; GRIGOLLI, J. F. J.; MELOTTO, A. M.; PITOL, C.; GITTI, D. C.; ROSCOE, R. (Eds.). **Tecnologia e produção: Soja 2013/2014**. Maracaju, MS: Fundação MS, 2014.
- HA, B. K.; BENNETT, B.; HUSSEY, R. S.; FINNERTY, S. L.; BOERMA, H. R. Pedigree analysis of a major QTL conditioning soybean resistance to southern root-knot nematode. **Crop Science**, v.44, p.758-763, 2004.
- HARTMAN, G. L.; SIKORA, E. J.; RUPE, J.C. Rust. In: HARTMAN, G. L.; RUPE, J. C.; SIKORA, E. J.; DOMIER, L. L.; DAVIS, J. A.; STEFFEY, K. L. (Ed.). **Compendium of soybean diseases and pests**. 5th ed. St. Paul: American Phytopathological Society, 2015. 201 p.

- HARTWIG, E.E.; YOUNG, L.D. Registration of soybean germplasm line J81-116. **Crop Science**, v.26, p. 209, 1986.
- HARTWIG, E. E. Identification of a fourth major gene conferring resistance to soybean rust. **Crop Science**, v. 26, p. 1135-1136, 1986.
- HARTWIG, E. E.; BROMFIELD, K. R. Relationships among 3 genes conferring specific resistance to rust in soybeans. **Crop Science**, v. 23, p. 237-239, 1983.
- HOFFMANN-CAMPO, C. B.; ARIAS, C. A. A.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; LIMA, D. de; LORINI, I. MELO, C. L. P. de. Manejo reforçado. **Cultivar: Grandes Culturas**, Pelotas nº 245, p. 14-19, out 2019.
- HOFFMANN-CAMPO, C. B.; ARIAS, C. A. A.; LOPES, I de O. N.; CORRÊA-FERREIRA, B. S. Análises para subsidiar a elaboração de protocolo para seleção a campo de soja tolerante a percevejos sugadores de sementes. In: Congresso Brasileiro de Entomologia, 27. Congresso Latino-Americano de Entomologia, 10, 2018, Gramado, **Anais...Gramado: Sociedade Entomologia do Brasil**, 2018, p 1392.
- HOFFMANN-CAMPO, C.B.; HARBONE J.B.; MCAFFERY A.R. Pre-ingestive and post-ingestive effects of soya bean extracts and rutin on *Trichoplusia ni* growth. **Entomologia Experimentals et Applicata**, v. 98, p. 181-194, 2001.
- HORIKOSHI, R. J.; BERNARDI, O.; GODOY, D. N.; SEMEÃO, A.A.; WILLSE, A.; CORAZZA, G.O. RUTHES, E.; FERNANDES, D.DE S.; SOSA-GÓMEZ D.R.; BUENO, A.DE F. OMOTO, C.; BERGER, G. U.; CORRÊA, A. S.; MARTINELLI, S.; DOURADO, P.M.; HEAD, G. Resistance status of lepidopteran soybean pests following large-scale use of MON 87701 MON 89788 soybean in Brazil. **Pest Management Science**, v. 11, Article 21323, 2021.
- HYTEN, D. L.; HARTMAN, G. L.; NELSON, R. L.; FREDERICK, R. D.; CONCIBIDO, V. C.; NARVEL, J. M.; CREGAN, P. B. Map location of the *Rpp1* locus that confers resistance to soybean rust in soybean. **Crop Science**, v. 47, p. 837-840, 2007.
- JGI - Joint Genome Institute, MycoCosm - The fungal genomics resource. *Phakopsora pachyrhizi*, 2019. Disponível em: <https://mycocosm.jgi.doe.gov/Phakopsora/Phakopsora.info.html>. Acesso em: 16 jan. 2022.
- JONES, J.R.; SULLIVAN, M.J. Soybean resistance to Southern green stink bug *Nezara viridula*. **Journal of Economic Entomology**, v. 72, p. 628-632, 1979.
- KENNEDY, G.G.; GOULD, F.; DEPONTI, O.M.B.; STINNER RE. Ecological, agricultural, genetic, and commercial considerations in the deployment of insect-resistant germplasm. **Environmental Entomology**, v.16, p. 327-338, 1987. DOI: 10.1093/ee/16.2.327.
- KILLEN, T.C.; HATCHETT, J.H.; HARTWIG, E.E. Evaluation of early generation soybean for resistance to soybean looper. **Crop Science**, v. 26, p. 869-871, 1977.
- KIM, K. S.; UNFRIED, J. R.; HYTEN, D. L.; FREDERICK, R. D.; HARTMAN, G. L.; NELSON, R. L.; SONG, Q.; DIERS, B. W. Molecular mapping of soybean rust resistance in soybean accession PI 561356 and SNP haplotype analysis of the *Rpp1* region in diverse germplasm. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 125, p.1339-1352, 2012.
- KOCH K.; CHAPMAN K.; LOUIS J.; HENG-MOSS T.; SARATH G. Plant tolerance: a unique approach to control hemipteran pests. **Frontiers in Plant Science**, 7: Article 1363. 2016, DOI: 10.3389/fpls.2016.01363.
- KOGAN M.; ORTMAN E. Antixenosis: a new term proposed to define Painter's "nonpreference" modality of resistance. **Bulletin of the Entomological Society of America**, v. 24, p. 175-176, 1978.
- KUSS, C.C.; TOALDO, V.D.B.; BERGHETTI, J.; PIAS, O.H.C.; KUSS-ROGGIA, R.C.R.; SOSA-GÓMEZ, D.R.; BASSO, C.J.; SANTI, A.L.; ROGGIA, S. Percentagem de espécies de percevejos pentatomídeos ao longo do ciclo da soja no Norte do Paraná. In: JORNADA ACADÊMICA DA EMBRAPA SOJA, 7, 2012, Londrina. **Resumos expandidos...** Londrina: Embrapa Soja, 2012, p. 30-34. (Embrapa Soja. Documentos, 333).
- KUSS-ROGGIA, R.C.R. Distribuição espacial e temporal de percevejos da soja e comportamento de *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837) (Hemiptera: Pentatomidae) na soja (*Glycine max* (L.) Merrill) ao longo do dia. 2009. 128f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.
- LAMBERTI, L.; KILLEN, T.C. Multiple insect resistance in several soybean genotypes. **Crop Science**, v. 24, p. 887-890, 1984.
- LI, S.; SMITH, J. R.; RAY, J. D.; FREDERICK, R. D. Identification of a new soybean rust resistance gene in PI 567102B. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 125, p. 133-142, 2012.
- LORINI, I. **Qualidade de sementes e grãos comerciais de soja no Brasil - safra 2017/2018**. - Londrina: Embrapa Soja, 2019. 220 p. (Embrapa Soja. Documentos, 422).
- LUZZI, B.M.; BOERMA, H.R.; HUSSEY, R.S. Inheritance of resistance to the peanut root-knot nematode in soybean. **Crop Science**, v.35, p.50-53, 1995a.
- LUZZI, B. M.; TAMULONIS, J.; HUSSEY, R. S.; BOERMA, H. R. Inheritance of resistance to the javanese root-knot nematode in soybean. **Crop Science**, v.35, p.1372-1375, 1995b.

- MCLEAN, R. J.; BYTH, D. Inheritance of resistance to rust (*Phakopsora pachyrhizi*) in soybean. *Australian Journal of Agricultural Research*, v. 31, p. 951-956, 1980.
- MITCHELL C.; BRENNAN R.M.; GRAHAM J.; KARLEY A.J. Plant defense against herbivorous pests: exploiting resistance and tolerance traits for sustainable crop protection. *Frontiers in Plant Sciences*, 7, Article 1132, 2016.
- MONTEROS, M. J.; MISSAOUI, A. M.; PHILLIPS, D. V.; WALKER, D. R.; BOERMA, H. R. Mapping and confirmation of the 'hyuuga' red-brown lesion resistance gene for Asian soybean rust. *Crop Science*, v. 47, p. 829-834, 2007.
- PAINTER R. *Insect resistance in crop plants*. Lawrence: University of Kansas Press. 1951.
- PANIZZI, A.R., BUENO, A. F., SILVA, F. A. C. Insetos que atacam vagens e grãos. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. (Eds.). *Soja - Manejo Integrado de Insetos e outros Artrópodes-Praga*. Brasília, DF: Embrapa, 2012. p. 335-420.
- PANIZZI, A. R.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; NEWMAN, G. G.; TURNIPSEED, S. G. Efeito de inseticidas na população das principais pragas da soja. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v. 6, p. 264-275, 1977.
- PASSIANOTTO, A.; SONAH, H.; DIAS, W. P.; MARCELINO-GUIMARAES, F. C.; BELZILE, F.; ABDELNOOR, R. V. Genome-wide association study for resistance to the southern root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in soybean. *Molecular Breeding*, v. 37, artigo148, 2017. DOI: 10.1007/s11032-017-0744-3
- PEDIGO L. P.; HIGLEY L. G. 1992. The economic injury level concept and environmental quality. *American Entomologist*, v. 38, p. 12-21. DOI: 10.1093/ae/38.1.12.
- PEDIGO, L. P.; RICE, M. E. *Entomology and Pest Management*, 5 ed. Upper Saddle River, New Jersey: Pearson Prentice Hall, 2006. 784 p.
- PICHERSKY, E.; LEWINSOHN, E. Convergent evolution in plant specialized metabolism. *Annual review of plant biology*, v. 62, p. 549-566. 2011. DOI: 10.1146/annurev-arplant-042110-103814.
- PIUBELLI, G. C.; CAMPO, C. B. H.; ARRUDA, I. C.; FRANCHINI, J. C.; LARA, F. M. Flavonoid increase in soybean genotypes as response of *Nezara viridula* injury and its effect on insect-feeding preference. *Journal of Chemical Ecology*, v. 29, p. 1223-1233, 2003.
- PIUBELLI, G. C.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; MOSCARDI, F.; MIYAKUBO, S. H.; OLIVEIRA, M. C. N. Are chemical compounds important for soybean resistance to *Anticarsia gemmatilis*? *Journal of Chemical Ecology*, v. 31, p. 1515-1531, 2005.
- PETERSON, R. K. D.; VARELLA, A. C.; HIGLEY, L. G. Tolerance: the forgotten child of plant resistance. *PeerJ*, v. 5, Article 3934, 2017. DOI: 10.7717/peerj.3934
- ROSSETTO, C. J.; TISSELLI FILHO, O.; CIONE, J.; GALLO, P. B.; RAZERA, L. F.; TEIXEIRA, J. P. F.; BERTOLETTO, N. *Cultivar de soja IAC 100*. Campinas, IAC folder, 1990.
- SCHMUTZ, J.; CANNON, S.; SCHLUETER, J.; MA, J.; MITROS, T.; NELSON, W.; HYTEN, D. L.; SONG, Q.; THELEN, J. J.; CHENG, J.; XU, D.; HELLSTEN, U.; MAY, G. D.; YU, Y.; SAKURAL, T.; UMEZAWA, T.; BHATTACHARYYA, M. K.; SANDHU, D.; VALLIYODAN, B.; LINDQUIST, E.; PETO, M.; GRANT, D.; SHU, S.; GOODSTEIN, D.; BARRY, K.; FUTRELL-GRIGGS, M.; ABERNATHY, B.; DU, J.; TIAN, Z.; ZHU, L.; GILL, N.; JOSHI, T.; LIBAULT, M.; SETHURAMAN, A.; ZHANG, X. C.; SHINOZAKI, K.; NGUYEN, H. T.; WING, R. A.; CREGAN, P.; SPECHT, J.; GRIMWOOD, J.; ROKHSAR, D.; STACEY, G.; SHOEMAKER, R. C.; JACKSON, S. A. Genome sequence of the palaeopolyploid soybean. *Nature*, n. 463, pp. 178-183, 2010. DOI: 10.1038/nature08670
- SEIXAS, C. D. S.; MAZARO, S. M.; REY, M. S. Manejo de doenças em sistema de cultivo orgânico. In: MAZARO, S. M.; CHALIOI, M. A.; ALBAN, A. A.; ZORZZI, I. C. (Eds.). *Sistema de Produção Soja Orgânica*. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2017. p. 198-216.
- SEIXAS, C. D. S.; NEUMAIER, N.; BALBINOT JUNIOR, A. A.; KRZYZANOWSKI, F. C.; LEITE, R. M. V. B. C. (Eds.). *Tecnologias de produção de soja*. Londrina: Embrapa Soja, 2020. 347 p. (Embrapa Soja. Sistemas de Produção 17).
- SILVA, D. C.; YAMANAKA, N.; BROGIN, R. L.; ARIAS, C. A.; NEPOMUCENO, A. L.; DI MAURO, A. O.; PEREIRA, S. S.; NOGUEIRA, L. M.; PASSIANOTTO, A. L.; ABDELNOOR, R. V. Molecular mapping of two loci that confer resistance to Asian rust in soybean. *Theoretical and Applied Genetics*, v. 117, p.57-63, 2008.
- SILVA, J. F. V. Resistência genética de soja a nematoides do gênero *Meloidogyne*. In: SILVA, J.F.V. (Ed.). *Relações parasito-hospedeiro nas Meloidoginoses da soja*. Londrina: Sociedade Brasileira de Nematologia / Embrapa Soja, 2001. Cap.4, p.95-127.
- SILVA, J. F. V.; FERRAZ, L. C. C. B.; ARIAS, C. A. A. Herança da resistência a *Meloidogyne javanica* em soja. *Nematropica*, v.31, p.209-217, 2001.
- SILVA, J.F.V.; FERRAZ L.C.B.C.; ARIAS, C.A.A.; ABDELNOOR, R.V. Identificação de Marcadores Moleculares de Microsatélites Associados a Resistência de Genótipos de Soja a *Meloidogyne javanica*. *Nematologia Brasileira*, v. 25, p.79-83, 2001

SILVA, R.A.; MACHADO, A.C.Z.; SANTOS, T.F.S.; SILVA, R.G. Nematoides no sistema de produção. *Boletim de Pesquisa* 2019/2020. Fundação MT, p.53-70, 2020.

SMITH C. **Plant resistance to arthropods: molecular and conventional approaches**. New York: Springer, 2005. 423 p.

SOSA-GÓMEZ, D.R.; BUENO, A.F. O fantasma da resistência em soja *Bt. A granja*, v. 872. pp. 51-52, 2021.

SOSA-GÓMEZ, D.R.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; HOFFMANN-CAMPO, C.B.; CORSO, I.C.; OLIVEIRA, L.J.; MOSCARDI, F.; PANIZZI, A.R.; BUENO, A.F.; HIROSE, E. **Manual de identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2010. 89 p. (Embrapa Soja. Documentos, 269).

SOSA-GÓMEZ, D.R.; OMOTO, C. Resistência a inseticidas e outros agentes de controle em artrópodes associados à cultura da soja. In: CLARA BEATRIZ HOFFMANN-CAMPO, BEATRIZ SPALDING CORRÊA-FERREIRA, FLAVIO MOSCARDI (Eds.). *Soja - Manejo Integrado de Insetos e outros Artrópodes-Praga*. Brasília, DF: Embrapa, 2012. p. 675-723

SOSA-GÓMEZ, D.R.; MARCELINO-GUIMARÃES, F.C.; HOFFMANN-CAMPO, C.B. A biotecnologia, o melhoramento e o manejo de pragas da soja. In: CLARA BEATRIZ HOFFMANN-CAMPO, BEATRIZ SPALDING CORRÊA-FERREIRA, FLAVIO MOSCARDI (Eds.). *Soja - Manejo Integrado de Insetos e outros Artrópodes-Praga*. Brasília, DF: Embrapa, 2012. p. 725-788.

SOUZA, R.F.; TOLEDO, J.F.F. Genetic analysis of soybean resistance to stinkbug. *Brazilian Journal of Genetics*, v. 18, p.5 93-598, 1995.

TRAN, D.T.; STEKETEE, C.J.; BOEHM, J.D.; NOE, J.; LI, Z. Genome-wide association analysis pinpoints additional major genomic regions conferring resistance to soybean cyst nematode (*Heterodera glycines* Ichinohe). *Frontier in Plant Science*, v.10, p.1-13, 2019. DOI: 10.3389/fpls.2019.00401

TUELHER, E.S.; SILVA, E.H.; HIROSE, E.; GUEDES, R.N.C.; OLIVEIRA, E.E. Competition between the phytophagous stink bug *Euschistus heros* and *Piezodorus guildinii* in soybeans. *Pest Management Science*, v. 72, p. 1837-1843, 2016.

VEIGA, R.F.A.; RAZERA, L.F.; GALLO, P.B.; BERTOLETTO, N.; MEDINA, P.F.; TISSELLI FILHO, O.; CIONE, J. **Caracterização morfológica e agronômica da cultivar IAC 100**. Campinas: Instituto Agronômico, 1999. 23 p. (Instituto Agronômico de Campinas, Boletim Técnico, 177).

VIEIRA, S.S.; LOURENÇÃO, A.L.; GRAÇA, J.P. da; JANEGITZ, T. SALVADOR, M.C.; OLIVEIRA, M.C.N de; HOFFMANN-CAMPO, C.B. Biological aspects of *Bemisia tabaci* biotype B and the chemical causes of resistance in soybean genotypes. *Arthropod-Plant Interactions*, v. 10 (6), 525-534, 2016. DOI 10.1007/s11829-016-9458-4.

VILLAS-BOAS, G.I.; GAZZONI, D.L.; OLIVEIRA, M.C.N de; COSTA, N.P.; ROESSING, A.C.; FRANÇA NETO, J.B.; HENNING, A.A. **Efeito de diferentes populações de percevejos sobre os rendimentos e seus componentes, característica agronômicas e qualidade da soja**. Londrina: Embrapa CNPSo, 1990. (Embrapa CNPSo. Boletim de Pesquisa, 1).

YUE, P.; SLEPER, D.A.; RAO-ARELLI, A.P. Genetic analysis of resistance to soybean cyst nematode in PI 438489B. *Euphytica*, v.116, p.181-186, 2000.

YORINORI, J. T.; HARTMAN, G. L.; MEYER, M. C.; HENNING, A. A.; GODOY, C. V. (Eds.). **Soybean rust: lessons learned from the pandemic in Brazil**. Saint Paul: American Phytopathological Society, 2021. 136 p.

YU, N.; LEE, T.G.; ROSA, D.P.; HUDSON, M.; DIERS, B.W. Impact of *Rhg1* copy number, type, and interaction with *Rhg4* on resistance to *Heterodera glycines* in soybean. *Theoretical Applied Genetic*, v.129, p. 2403-2412, 2016.



PARTE II

TECNOLOGIA DE APLICAÇÃO

Desafios na adoção de bioinsumos

Sérgio Miguel Mazaro

Juliano Cesar da Silva

Maurício Conrado Meyer

Adeney de Freitas Bueno

Introdução

Com a crescente preocupação mundial pela preservação ambiental e a produção de alimentos mais saudáveis e de forma sustentável, conceitos como agricultura regenerativa e bioinsumos estão em evidência. Além disso, o número de moléculas químicas disponíveis para utilização agrícola vem sendo reduzida periodicamente, o que aumenta a demanda por alternativas sustentáveis que possam substituir muitos desses químicos banidos do mercado para uma maior proteção ambiental ou de saúde. Nesse novo cenário o solo e a planta passam a fazer parte de um sistema produtivo integrado e mais equilibrado, abuscando-se a redução do uso de agroquímicos e priorizando-se a utilização de produtos de baixo impacto ambiental e de baixo risco à saúde humana. Esse movimento contribuiu para o desenvolvimento e a utilização de bioinsumos.

Entretanto, a temática da produção sustentável inclui grandes desafios, como por exemplo, o manejo de pragas, doenças, nematoides e plantas daninhas, geralmente associado a um sistema produtivo em desequilíbrio. Comumente nestas áreas, a perda de efetividade de alguns ativos químicos e a seleção de populações de pragas resistentes é uma realidade. Isso desequilibra ainda mais o sistema produtivo, exigindo medidas de manejo eficientes para que perdas econômicas de produtividade sejam evitadas, ou pelo menos mitigadas.

Além desses desequilíbrios mencionados até aqui que ocorrem acima do solo, é importante também levar em consideração o que ocorre abaixo do solo. Nesse contexto, deve-se considerar o uso demasiado de fertilizantes químicos, sem diversidade de plantas, culminando em solos pobres quanto aos níveis de matéria orgânica, baixa capacidade de retenção de água, reduzida solubilização de nutrientes e baixa biodiversidade. Seguindo este racional, podemos complementar que no sistema produtivo em desequilíbrio, a saúde do solo foi deixada de lado, na busca de uma produtividade momentânea, em que ao longo dos cultivos, o solo foi comprometido e o potencial produtivo estagnou ou em muitos casos houve decréscimo de produtividade. Nestas situações, em solos depauperados, visando a produtividade, e esquecendo do solo, o agricultor busca no aumento das doses de fertilizantes químicos tentar solucionar um problema, que foi causado ao longo dos anos. Atualmente, devido à dificuldade em encontrar áreas

novas, bem como, com a preocupação com a saúde do solo, já não se permite este tipo de agricultura.

E quando se fala em agricultura regenerativa, o próprio termo nos remete a regenerar, o que envolve um manejo integrado do sistema produtivo, com substituição gradativa dos agroquímicos, inserção de bioinsumos que permitam a melhoria da saúde de todo o agroecossistema, o equilíbrio biológico, a estabilidade e eficiência dos agentes de controle biológico, o uso de práticas culturais sustentáveis (plântio direto, utilização de culturas de cobertura e a rotação de culturas), mensurando os riscos e preconizando altas produtividades. Entretanto, essa substituição de químicos sintéticos por alternativas biológicas não é tão simples de ser realizada e diferentes obstáculos precisam ser superados. Desta forma, este capítulo buscar abordar os principais desafios na adoção de bioinsumos na cultura da soja, visando desmistificar, trazer temas relevantes e experiências práticas.

Prospecção de novos bioinsumos

As universidades e os institutos de pesquisas públicos e privados vêm desenvolvendo pesquisas básicas com bioinsumos, como por exemplo, a prospecção de microrganismos, de macrorganismos, de metabólitos, de extratos vegetais, algas marinhas e formulações. Entretanto, alguns desafios ainda são encontrados nessa etapa, entre os quais podemos destacar:

1) A prospecção de microrganismos consiste no isolamento e caracterização de novas cepas, sendo que nos últimos anos diversos pesquisadores nas mais diferentes regiões do Brasil realizaram a prospecção. Adicionalmente, ao longo de décadas muitos isolados microbianos foram armazenados em coleção de culturas, os quais necessitam agora ser explorados quanto aos seus usos potenciais, finalizando portanto o desenvolvimento dos bioinsumos para que possam ser usados em campo na prática.

A seleção e a análise detalhada do potencial dos microrganismos demandam tempo e um programa específico de pesquisa que precisa de recursos financeiros e de pessoal para ser executado, visando a definição dos alvos biológicos a serem controlados e a caracterização do modo de ação do agente de biocontrole. Um dos maiores desafios é a integração entre pesquisadores, indústria e produtores, para que a prospecção de novos isolados continue no desenvolvimento de novos produtos comerciais com eficiência validada à campo, como por exemplo, a eficiência de controle, a solubilização de nutrientes, a mitigação ao estresse hídrico, a bioestimulação e a promoção de crescimento.

2) A prospecção de macrorganismos consiste na identificação de espécies de inimigos naturais. Estes organismos geralmente ocorrem na natureza e é necessário um bom avaliador para entender a dinâmica do ciclo de vida do inimigo natural. Pesquisas de campo, associadas ao laboratório são determinantes nesta fase. Os inimigos naturais podem ser classificados em predadores e parasitoides. Após a fase de caracterização, segue-se a definição da metodologia de produção massal do organismo selecionado e de sua liberação comercial em campo. O sucesso dessas etapas exige muitos esforços de pesquisa e recursos financeiros, o que é justamente um dos principais desafios na prospecção e desenvolvimento de bioinsumos a base de macrorganismos. Como o desenvolvimento de produtos macrobiológicos utiliza organismos vivos da natureza, estes tem muita dificuldade de ter qualquer tipo de proteção intelectual de sua composição ou desenvolvimento. Isso desestimula seriamente investidores privados em seu desenvolvimento, pois estes não terão qualquer exclusividade ou vantagem comercial na exploração do bioinsumo proveniente de seu investimento financeiro.

3) A prospecção de metabólitos tende a ser um dos maiores avanços na área de bioinsumos nos

próximos anos, considerando o potencial dos microrganismos na produção destes compostos. A ciência vem avançando na área de metagenômica e metabolômica, contribuindo na identificação, caracterização desses metabólitos, entretanto, os desafios existentes estão concentrados na necessidade de pesquisas referentes a estabilização, a produção em escala comercial e principalmente a formulação, que tem atualmente um número muito pequeno de profissionais atuantes na área no Brasil, o que certamente limita o avanço na obtenção de produtos comerciais. Atualmente no Brasil existem apenas produtos registrados à base de peptídeos derivados de proteína harpin e de cerevisane.

4) A prospecção de extratos vegetais de diferentes espécies é uma das estratégias amplamente utilizadas na identificação de novos compostos que possam ser utilizadas para a agricultura. Os extratos de plantas são complexos derivados de matérias-primas de origens diversas, necessitando processos distintos para obtenção do amplo espectro de bioatividade presente (Yakhin et al., 2017). A identificação dos compostos, a extração dos compostos por diferentes metodologias, a estabilização e formulação, são atividades que demandam conhecimentos da área química. A utilização de extratos de plantas na agricultura remonta ao início da agricultura, mas somente nos últimos anos os extratos vegetais foram formulados em produtos comerciais. No Brasil atualmente existem produtos registrados no MAPA à base de óleo de Nim, extrato de Melaleuca, extrato de alho, extrato de *Reynoutria sachalinensis* e extrato etanólico de *Sophora flavescens*. No entanto, existem relatos de extratos como o extrato de moringa (*Moringa oleifera*), utilizada na cultura do feijão (Howladar et al., 2014; Elzaawely LY et al., 2017), milho (Basra et al., 2011) e trigo (Rehman et al., 2017); o extrato de alcaçuz (*Glycyrrhiza glabra*) em feijão (Rady et al., 2019) e em ervilha (Desoky et al., 2019) e o extrato de artemisia (*Artemisia vulgaris*) em batata (Findura et al., 2020).

Com a diversidade de plantas no Brasil, o potencial de desenvolvimento de bioinsumos é enorme, sendo muitas plantas relatadas cientificamente, e não exploradas comercialmente. O grande desafio é a realização de análises especializadas que permitem entendimento dos processos moleculares, bioquímicos e fisiológicos relacionados, para melhor entendimento das vias fisiológicas e bioquímicas afetadas. Também é importante a intensificação de estudos que considerem o potencial na melhoria de cultivos, cultivares, condições distintas de solo e clima, níveis nutricionais, doses e frequência de aplicações, fatores esses determinantes para aplicação segura e em larga escala destes bioinsumos, assim como de qualquer outro insumo agrícola.

5) A prospecção de produtos à base de algas marinhas, consiste na identificação da espécie e caracterização de qual componente será utilizado no produto formulado, podendo ser utilizado a alga ou seus derivados. Os produtos à base de algas marinhas têm um amplo espectro de utilização, podendo os produtos serem classificados como bioestimulantes, biofertilizantes, quando o foco principal é a nutrição das plantas, mas também pode ser classificado como indutores de resistência. Atualmente no MAPA existem registros de produtos à base de *Ecklonia máxima* e *Laminaria digitata*. Para os biofertilizantes e bioestimulantes comumente são utilizadas as espécies de *Ascophyllum nodosum*, *Lithothamnium calcareum* e cianobactérias.

Por mais que se tenha avançado na busca e descoberta de novos microrganismos, metabólitos, extratos vegetais, algumas demandas ainda são desafios, como: a mitigação a seca, a tolerância à altas temperatura e salinidade, a seleção de rizobactérias que beneficiam o hospedeiro com a síntese de moléculas osmoprotetoras, a produção de enzimas antioxidantes, de fitohormônios e de agentes reguladores do metabolismo.

Formulação

A adoção ampla dos bioinsumos na agricultura somente ocorrerá se os produtos comerciais apresentarem formulações, onde, o ingrediente ativo ou nutriente de interesse esteja estabilizado numa formulação inovadora, para o que o agricultor possa utilizar o produto corretamente no campo.

Desta forma, nas últimas décadas as pesquisas em formulações, como por exemplo, de agentes de biocontrole, bioestimulantes e biofertilizantes têm sido realizadas por grupos de pesquisadores multidisciplinares em instituições de pesquisa públicas e privadas. Estas pesquisas, anteriormente realizadas pela indústria química, agora tem um olhar para os bioinsumos, visando a estabilização dos microrganismos vivos, onde se pretende manter a estrutura, como por exemplo, os conídios, os blastósporos, os microscleródios, os endósporos e as células viáveis por um período de 12, 24 e até 36 meses.

Com relação aos extratos de plantas, extratos de algas e metabólitos, o desenvolvimento de formulações, além da estabilização do produto, são cruciais para o sucesso na eficiência dos produtos. Por isso, a pesquisa e inovação em formulações deve ser fomentada para que novos profissionais sejam capacitados e possam contribuir na oferta de produtos inovadores e de elevada eficiência.

Produção industrial e qualidade dos bioinsumos

Os bioinsumos necessitam ser produzidos em escala industrial, visando atender a demanda do campo. Portanto, é necessária a mecanização de muitos dos processos de produção do bioinsumo que atualmente ainda são feitos de forma manual. Somente assim será possível o escalonamento da produção a preços acessíveis e competitivos para serem usados na prática. A clareza de qual componente será utilizado na formulação do bioinsumos, determinará o tipo de planta industrial a ser implantada. Ou seja, para cada tipo de componente ou ingrediente ativo demandará equipamentos específicos, como por exemplo, os reatores utilizados para a fermentação de bactérias não são os mesmos utilizados para a fermentação de fungos, os laboratórios para a criação de insetos não poderão estar situados na mesma estrutura que os destinados à produção de fungos e bactérias, o processo industrial de extratos de plantas necessita de estrutura e laboratório dedicados e especializados. Portanto, para cada tipo de bioinsumo e volume a ser produzido a estrutura da planta industrial deverá ser planejada e dimensionada, para que o processo produtivo possa ocorrer da melhor forma possível, evitando transtornos e perdas durante sua produção.

Quando se trata de qualidade de bioinsumos, as principais características inicialmente analisadas são referentes à pureza do produto (ausência de contaminantes) e à adequada concentração do seu ingrediente ativo.

Com relação aos contaminantes, a indústria vem evoluindo muito, implantando programas de controle de qualidade, seleção de boa matéria prima, equipamentos e com equipe especializada, o que tem resultado em período de prateleira dos produtos industrializados adequado para a realidade do campo. Diante disso, capítulos específicos referentes ao controle de qualidade na produção de microbiológicos e também na produção de macrobiológicos foram redigidos por especialistas e podem ser consultados mais a frente nesse livro.

No processo de produção *on farm*, apesar de ter ocorrido melhorias nos sistemas de produção, ainda é um problema a presença de contaminantes, seja por falta de equipamentos adequados, matéria prima com pouca qualidade ou da carência de profissionais especializados.

Outros fatores não menos importantes que a questão de contaminações é a concentração do produto

biológico e a sua viabilidade até o momento da aplicação. Com relação a concentração, da mesma forma que já abordado em relação aos contaminantes, a indústria vem aperfeiçoando seus processos produtivos e atingindo concentrações padronizadas. Além de inserir no processo industrial componentes da formulação que propiciam estabilidade e viabilidade dos produtos.

No sistema *on farm*, acredita-se que este tema seja um dos maiores desafios, haja visto que mesmo com estruturas mais especializadas para o processo produtivo, carece de padrão de qualidade da matéria prima, e inserção de técnicas que permitam uma maior vida de prateleira, neste sentido, a concentração e a viabilidade são instáveis após algumas horas em armazenamento. Nessa mesma linha, a não utilização de tecnologia apropriada para o processo produtivo pode resultar em produto com baixa ou nenhuma eficiência como relatado por Valicente et al., 2018, que realizaram estudos com produtos *on farm* a base de *B. thuringiensis*, e observaram que além de contaminações, inexistia a presença de cristais, estrutura determinante para eficiência a campo do inseticida à base de *B. thuringiensis*.

Adicionalmente, um dos fatores mais importantes é a viabilidade dos agentes biológicos no momento da aplicação, devendo considerar alguns fatores como transporte da indústria para revendas ou produtores, armazenamento, formas de aplicação e suas compatibilidades. Quanto ao acondicionamento inicial e transporte pela indústria, existe uma preocupação com a logística, muitas vezes utilizando centrais de distribuição, que facilitam o transporte de forma rápida, uso de câmaras frigoríficas ou caixas térmicas.

O grande desafio que tem se observado é a preservação desses produtos na fazenda, na maioria dos casos sem controle de temperatura, e armazenados por longos períodos e muitas vezes em condições inadequadas. Também em alguns casos tem se observado tratamentos prévios, quando utilizados nas sementes, o que gera perda de viabilidade, seja por condições ambientais adversas ou até mesmo por incompatibilidade. Neste sentido, é importante um trabalho de conscientização seja do produtor ou do técnico que faz o acompanhamento, demonstrando que existe uma necessidade de cuidados distintos no preparo e utilização da calda de aplicação.

Ainda outro fator que precisa ser considerado, quando a aplicação for no sulco de semeadura, muitas vezes, são utilizados equipamentos que não possuem isolante térmico no tanque de armazenamento, elevando a temperatura, em alguns casos chegando acima de 40 °C, inviabilizando grande parte dos agentes biológicos. É importante ações junto a indústria, adequando os tanques de armazenamento de biológicos, seja com isolamento térmico ou com sistema de refrigeração.

Tecnologia de aplicação

Para o sucesso do controle biológico é necessário o amplo entendimento dos alvos biológicos a ser controlados e como atingi-los. Quando se trata de problemas fitopatológicos na cultura da soja, é importante ter conhecimento do ciclo da relação patógeno hospedeiro, identificar a fonte de inóculo inicial, e nesse caso definir estratégias de como evitar a disseminação ou redução do inóculo inicial.

Se o problema for fungos de solo e nematoides, a intervenção biológica tem que ser no solo, seja no tratamento de sementes, ou preferencialmente no sulco de semeadura. Já quando o problema for mofo-branco, o alvo biológico são os escleródios, neste caso, a aplicação deverá ser preferencialmente na fase inicial do cultivo da soja, ou seja, antes de ocorrer o fechamento da linha. Outra opção de controle seria no sistema de produção, contemplando os cultivos que antecedem ou sucedem a cultura, com foco na redução do inóculo inicial de *Sclerotinia sclerotiorum*.

Se o problema for doenças foliares, da mesma forma, importante identificar a fonte de inóculo, no caso de oídio, míldio e ferrugem-asiática que são causadas por fungos biotróficos, as aplicações devem ser preventivas, permitindo estabilização dos agentes biológicos, e associadas dentro de um programa de manejo de fungicidas. Quando se trata de doenças causadas por fungos hemibiotróficos e necrotróficos, como crestamento de cercospora, mancha-parda, antracnose e mancha-alvo, onde a fonte de inóculo inicial estão nos restos culturais, devido às suas características saprofiticas, a intervenção deve iniciar de forma preventiva, atingindo a palhada para que haja uma ação de biocontrole, bem como atinja o baixeiro da planta, local de ocorrência das primeiras infecções.

Quando se trata do manejo de pragas é importante termos o entendimento do ciclo de vida do inseto-praga, hábito alimentar e momento de intervenção mais assertiva, permitindo redução de danos e efetividade de controle. Como exemplo de sucesso, e eficiência do uso de Bt no controle da lagarta *Helicoverpa armigera* no ano de 2013, quando ocorreu a introdução da praga no Brasil e resultou na grande adoção do bioinseticida.

Outra questão a ser considerada é que tem-se preconizado a redução dos volumes de calda de produtos químicos, na busca de melhor rendimento operacional. Já com os biológicos essa redução de calda pode comprometer a efetividade do controle.

Essa questão de atingir o alvo biológico parece bastante óbvia, no entanto, observa-se que no campo, existem ainda posicionamentos inadequados, tornando a aplicação pouco eficiente ou ineficiente.

Em qualquer aplicação, seja química ou biológica, os principais cuidados a serem observados, tais como tamanho de gotas, volume de aplicação, adequação aos tipos de alvos, pressão de pulverização, velocidade de deslocamento, regulagens, calibrações e manutenções para o bom desempenho do pulverizador e respeitar as condições meteorológicas no momento das aplicações, como o vento, temperatura e umidade, para que as pulverizações aconteçam com qualidade, segurança e eficiência. Para aplicações de biológicos cuidados que antecedem o preparo de caldas, os sistemas de agitação, o local e tempo de armazenamento da calda, os tipos de formulações e adjuvantes e a interação biológica destes fatores com os componentes dos circuitos hidráulicos dos pulverizadores para que as aplicações aconteçam de forma eficiente e eficaz.

Mas vale reforçar que quando se trata de biológicos, esses parâmetros são orientações básicas que devem ser seguidas, mas o maior desafio é aplicar em condições ambientais que permitam a estabilização dos agentes biológicos na cultura ou no sistema. Portanto, fatores como umidade, temperatura e insolação, são condições primordiais que devem ser observadas durante a aplicação de bioinsumos.

Quando a aplicação for realizada na semente ou no sulco de semeadura, e se a semeadura for realizada antes da normalização das chuvas, "no pó", prática não recomendada mas comumente utilizada nos cerrados brasileiros, a perda de viabilidade do agente biológico deve ser considerada, o que pode ser observado com o uso de inoculantes à base de *Bradyrhizobium*, resultando em baixa nodulação. Considera-se que para a efetividade de agentes biológicos quando usado na semente e sulco de semeadura, as condições de umidade devem ser similares para germinação de sementes.

Compatibilidade

É esperado que um único bioinsumo não seja suficiente para solucionar todos os problemas referentes a produção da cultura em que é aplicado. Assim, a compatibilidade de insumos biológicos e insumos químicos, assim como a compatibilidade entre diferentes insumos biológicos é crucial para o sucesso

do manejo da cultura e é discutido em detalhes em capítulo a frente nesse livro dedicado inteiramente ao tema. Em geral, deve-se sempre considerar no no tratamento de sementes com químicos associados a biológicos, além de problemas de incompatibilidades, limite de calda na semente, excesso de manuseio e consequentes danos mecânicos. Sendo recomendado, sempre que possível, a aplicação com jato dirigido no sulco de semeadura.

Outra aplicação de biológico utilizada de forma equivocada, é quando associados com glifosato, muitas vezes com alvo biológico para doenças foliares, mofo-branco ou pragas. Além das incompatibilidades com o ativo químico, tal aplicação ocorre a pleno sol, condição totalmente desfavorável para os bioinsumos. Nesta mesma linha, a aplicação conjunta com fertilizantes foliares, fungicidas e inseticidas, deve-se considerar além da compatibilidade química as condições ambientais favoráveis à aplicação com os agentes biológicos e muitas vezes indiferentes para a aplicação de químicos.

Bons resultados têm sido observados em aplicações noturnas, ou nas horas mais amenas do dia e com boa umidade. Estratégia de aplicação nessas condições tem demonstrado excelentes resultados quanto à efetividade do uso de biológicos.

Considera-se um dos maiores desafios o correto entendimento de que os bioinsumos necessitam de condições ambientais adequadas para a aplicação, neste sentido é importante por parte de consultores, técnicos, órgãos de pesquisa e extensão, realizar campanhas de conscientização e treinamentos, demonstrando a importância destas condições para sucesso dos bioinsumos.

Com relação à compatibilidade, esse é um dos grandes desafios que precisa evoluir, pois além da compatibilidade química, que permite viabilidade do agente de biocontrole, é importante considerar a seletividade a macroorganismos (predadores e parasitoides). Para isso, é importante que o produtor faça uso de tabelas de compatibilidades, considerando a especificidade do produto comercial, bem como, quando não existir tal informação, fazer uso de forma isolada, considerando ainda as melhores condições ambientais para a aplicação.

Outro fator que deve avançar é a identificação da compatibilidade biológica entre bioinsumos, pois existem muitas especificidades nos diferentes bioinsumos, não sendo possível generalizar que são compatíveis certos gêneros ou espécies, devendo-se conhecer o comportamento específico das cepas envolvidas durante o preparo de calda ou no produto formulado.

Casos de sucesso devem servir de exemplos, como a coinoculação na cultura da soja, com associação de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*, observado inicialmente por produtores e validado pela pesquisa, tanto do ponto de vista da compatibilidade entre os microrganismos, quanto da indicação de cepas mais apropriadas par ao produto formulado e da recomendação técnica.

Pesquisas conduzidas pela Embrapa Soja, resultaram no lançamento do inoculante contendo na mesma formulação os microrganismos *Azospirillum brasilense* e *Pseudomonas fluorescens* com ações de fixação de Nitrogênio, mobilização de Fósforo e promoção de crescimento de plantas, sendo registrado para as culturas da soja e do milho. Também na Embrapa Milho e Sorgo foi desenvolvida a associação de estirpes de *Bacillus subtilis* e *B. megaterium* capazes de aumentar a eficiência do uso de P para as plantas.

A pesquisa tem um grande desafio a ser enfrentado quanto a estudos que permitam considerar o uso da combinação de microrganismos, haja visto a grande diversidade de agentes biológicos, condições edafoclimáticas distintas no Brasil e condições de manejo cultural. Como precaução entende-se que a utilização de associações de biológicos devem ser validadas e orientadas pela pesquisa.

Utilização dos bioinsumos nos sistemas produtivos

A percepção de que o uso de biológicos deve ser utilizada no sistema é um dos grandes desafios a ser incorporado no manejo biológico, haja visto que em sistemas de cultivo com agroquímicos, tem-se preconizado o uso de forma distinta, utilização quando atinge o dano econômico ou ainda muitas vezes erroneamente de maneira calendarizada.

A intervenção com biológicos deve seguir o princípio de manejo preventivo, considerando tempo e condições de estabilização.

Neste sentido, no manejo dos fitopatógenos, o uso de agentes biológicos com especificidade de ação, aplicações nas diferentes culturas do sistema, associadas a rotação de culturas, permite redução dos patógenos, e consequente redução das doenças.

Caso muito esclarecedor é o do manejo de podridão-de-carvão causada por *Macrophomina phaseolina*, doença é favorecida por condições de baixa umidade do solo, adversas ao estabelecimento dos antagonistas e ação de biocontrole.

Nesse caso, a aplicação dos agentes de biocontrole deve ser feita de forma preventiva, em condições ambientais com umidade, o que permite a estabilização dos agentes biológicos, ocorrendo então ação sobre os microescleródios, e consequente redução da fonte de inoculo, resultando menores danos em condições propícias para a doença.

Da mesma forma para mofo-branco, o uso contínuo de agentes de biocontrole permite a redução do banco de escleródios, com a consequente redução da incidência da doença. A associação a rotação de cultura com plantas não hospedeiras e preservação de palhada, tem demonstrado ser estratégia complementar ao uso de biológicos no manejo da doença.

Para nematoides segue o mesmo raciocínio quanto ao conhecimento das espécies envolvidas no patossistema, o uso de agentes biológicos com efetividade de controle, aplicação de forma continuada nas diferentes culturas do sistema, associado a plantas não hospedeiras, permitem a redução da população na área, permitindo com isso, a redução dos danos causados à cultura e aumento da produtividade.

Da mesma forma para pragas, a visão de sistema, o monitoramento e as aplicações racionais, permitem o aumento da ocorrência de inimigos naturais, e consequente a redução dos danos causados pelas pragas.

Em síntese, é importante termos a percepção de que os bioinsumos são uma das inúmeras ferramentas, e que em ambientes em desequilíbrio, é importante ações no sistema produtivo, tendo o entendimento que a natureza precisa de tempo e de ambiente favorável para fazer a parte dela.

Tecnologias inovadoras

O maior desafio em tecnologias inovadoras é avançar no aperfeiçoamento de ferramentas que possibilitem a incorporação de bioinsumos em sistemas de produção, relacionado às condições biológicas, químicas, físicas e dos manejos culturais, sendo que, a intervenção assertiva conforme a necessidade, podendo ser o manejo fitossanitário, o nutricional ou o fisiológico. Essa transformação irá propiciar solos mais saudáveis e produtivos, biologicamente ativos e resilientes, com melhor eficiência no uso de nutrientes, com maior capacidade para armazenamento de água e de biorremediação de pesticidas.

Considerações finais

O uso crescente de biológicos exigirá mudanças legislativas, técnicas e culturais, sendo os desafios nos diferentes setores envolvidos:

Por parte do governo, deverá avançar no Programa Nacional de Bioinsumos, instituindo novas legislações, normativas específicas para os biológicos, bem como alinhadas com políticas internacionais, além de políticas que permitam maior aproximação dos setores da pesquisa, do setor privado e do legislativo.

Estimular as redes de pesquisadores, como por exemplo, a rede de ensaios de mofo-branco, coordenado pela Embrapa Soja, a qual valida os produtos biológicos para o controle de *S. sclerotiorum*. Ou ainda a RELARE (Reunião da Rede de Laboratórios para Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologias de Inoculantes Microbianos de Interesse Agrícola), auxiliando na transferência dos resultados da pesquisa para a indústria, apoio à normatização de regras para a certificação de produtos biológicos de qualidade, estímulo ao mercado nacional através da promoção do uso de novos produtos e difusão de novas tecnologias.

Por parte da pesquisa serão necessários avanços quanto a prospecção de novos agentes biológicos, entendimento da modalidade de ação, compatibilidades, novas formulações, exploração de metabólitos, recomendação técnica assertiva e segurança alimentar e ambiental.

Como exemplo de sucesso, a pesquisa encontrou estirpes com maior capacidade de FBN, competitivas e adaptadas a condições edafoclimáticas dos cerrados, sendo determinantes para eficiência da FBN com a soja brasileira (Hungria et al., 2006; Hungria; Mendes, 2015).

Ainda é necessário avançar em alguns segmentos pouco explorados, como o uso de biológicos no manejo de doenças foliares na cultura da soja, analisando os diferentes patossistemas, bem como, o desenvolvimento de bioinsumos a serem utilizados na mitigação dos estresses associados à seca, um dos grandes problemas já observados nos últimos anos, e visto como um dos grandes desafios a ser enfrentado no sistema de produção agrícola brasileiro.

Por parte da indústria, existe a necessidade de avanços quanto ao conhecimento da especificidade das cepas dos microrganismos e seus alvos biológicos, formulações inovadoras e de fácil manuseio, forma de armazenamento do produto formulado, compatibilidade com outros produtos, seletividade, estabilidade e vida de prateleira. Além de ampliar as relações públicas privadas, considerando o grande potencial científico das Instituições de pesquisa públicas.

Com relação a produção *on-farm*, a indústria deverá atender as licenças Federais, Estaduais e Municipais necessárias para a produção de agrotóxicos, assim, o processo de produção nesta modalidade garantirá os avanços no controle de qualidade e na segurança do processo produtivo.

Os serviços de assistência técnica e consultoria agrônoma deverão se capacitar para atender os produtores de forma assertiva quanto às orientações e recomendações de uso de bioinsumos.

O produtor rural deverá ter a percepção que a facilidade de manejo de pragas e doenças não é mais a mesma, os desafios serão muito maiores, e que ele terá um papel importante, para buscar reverter as condições de cultivo em desequilíbrio. Deverá passar por uma conscientização que irá necessitar fazer uso de agentes biológicos, que está trabalhando com microrganismos vivos, que devem chegar ao campo viáveis, precisam ter condições para se estabelecerem, bem como, investir em equipamentos apropriados para sua melhor performance.

E o consumidor, terá cada vez mais consciência dos benefícios de uma produção com redução de agroquímicos, e o emprego de bioinsumos, demandando cada vez mais por parâmetros relacionados à qualidade e segurança alimentar.

Um dos grandes desafios da agricultura regenerativa será o entendimento por parte dos produtores e técnicos na correta utilização dos bioinsumos no manejo integrado de pragas e doenças, associados aos benefícios nutricionais e de bioestimulação.

Portanto, a ampla adoção de bioinsumos no sistema de produção de soja está intrinsecamente ligada à geração de dados de pesquisa. Assim, é primordial o fomento de novos estudos visando o desenvolvimento de produtos inovadores, atrelado à difusão de tecnologia e capacitação técnica dos recomendantes e produtores.

Referências

- BASRA, S.M.A.; IFTIKHAR, M.N.; AFZAL, I. Potential of moringa (*Moringa oleifera*) leaf extract as priming agent for hybrid maize seeds. **International Journal of Agriculture & Biology**, v. 13, p. 1006-1010, 2011.
- DESOKY, E.-S. M.; ELSAYED, A. I.; MERWAD, A.-R.; RADY, M. M. Stimulating antioxidant defenses, antioxidant gene expression, and salt tolerance in *Pisum sativum* seedling by pretreatment using licorice root extract (LRE) as an organic biostimulant. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 142, p. 292-302, 2019.
- ELZAAWELY, A. A.; AHMED, M. E.; MASWADA, H. F.; XUAN, T. D. Enhancing growth, yield, biochemical, and hormonal contents of snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) sprayed with moringa leaf extract. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 63, n. 5, p. 687-699, 2017. Doi: 10.1080/03650340.2016.1234042
- FINDURA, P.; KOCIRA, S.; HARA, P.; PAWLOWSKA, A.; SZPARAGA, A.; KANGALOV, P. Extracts from *Artemisia vulgaris* L. in potato cultivation - preliminary research on biostimulating effect. **Agriculture**, v. 10, n. 356, 2020. Doi:10.3390/agriculture10080356
- HOWLADAR, S. M. A novel *Moringa oleifera* leaf extract can mitigate the stress effects of salinity and cadmium in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 100, p. 69-75, 2014.
- HUNGRIA, M.; MENDES, I. C. Nitrogen fixation with soybean: the perfect symbiosis? In: DE BRUIJN, F.J. (Ed.). **Biological nitrogen fixation**. vol.2. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2015. p.1009-1023. (DOI: 10.1002/9781119053095.ch99).
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C.; GRAHAM, P. H. Contribution of biological nitrogen fixation to the N nutrition of grain crops in the tropics: the success of soybean (*Glycine max* L. Merr.) in South America. In: SINGH, R. P.; SHANKAR, N.; JAIWAL, P. K. (Eds.). **Nitrogen nutrition and sustainable plant productivity**. Houston, Texas: Studium Press, LLC, 2006. p. 43-93.
- RADY, M. M.; DESOKY, E.-S. M.; EL RYS, A. S.; BOGHDADY, M. S. Can licorice root extract be used as an effective natural biostimulant for salt-stressed common bean plants? **South African Journal of Botany**, v. 121, p. 294-305, 2019.
- REHMAN, H. U.; BASRA, S. M. A.; RADY, M. M.; GHONEIM, A. M.; WANG, Q. Moringa leaf extract improves wheat growth and productivity by delaying senescence and source-sink relationship. **International Journal of Agriculture & Biology**, v. 19, p. 479-484, 2017.
- VALICENTE, F. H.; LANA, U. G. de P.; PEREIRA, A. C. P.; MARTINS, J. L. A.; TAVARES, A. N. G. Riscos à produção de biopesticida à base de *Bacillus thuringiensis*. Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 239. 20p, 2018.
- YAKHIN, O. I.; LUBYANOW, A. A.; YAKHIN, I. A.; BROWN, P. H. Biostimulants in plant science: a global perspective. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. 2049, 2017.

Tratamento de sementes e sulco de sementeira

*Jean Carlo Possenti
Géri Eduardo Meneghello*

Perspectiva histórica e a importância do tratamento de sementes

A natureza funciona de forma perfeitamente harmônica. Em uma porção de solo com uma vegetação nativa, existe uma diversidade de microrganismos em equilíbrio, com funções distintas ou exercendo interações.

Há milhares de anos atrás, quando as primeiras civilizações desenvolveram o cultivo das plantas, deixando de ser nômades, estabelecendo-se em locais onde era possível cultivar o seu próprio alimento. Com o avanço da agricultura, ocorreu a alteração do equilíbrio biológico do solo, ou seja, a saúde do solo. De toda sorte, mesmo atualmente e em solos com intenso cultivo agrícola, ainda existe uma ampla diversidade biológica atuando na decomposição da matéria orgânica, ciclagem de nutrientes, atividades endofíticas, dentre outras.

Ao se tentar combater o que acomete as lavouras, em geral, não se leva em conta, que no sistema biológico, talvez a cultura que está sendo conduzida naquele ambiente, seja de fato o elemento estranho. Assim, animais e microrganismos existentes no solo, tendem a atacar as sementes e as plantas das culturas, da mesma forma que o fazem até mesmo com sementes e plantas nativas que, de forma natural, ocorrem. Para tais organismos, as sementes no solo, são oportunidade de alimento e fonte de energia.

O homem sempre procurou proteger seus cultivos e a sua produção agrícola. Relatos de antigas literaturas, já davam conta das mais diversas variedades de substâncias sendo usadas na proteção das plantas ainda que, de uma forma rudimentar quando comparadas às da atualidade.

Nos primórdios do tratamento de sementes, relatos históricos mostram que na Grécia e Egito antigo, foram usadas substâncias com essência de alho, misturas de cal com água salgada, álcool, arsênico, cloreto de mercúrio, sulfato de cobre dentre outras. Inclusive, alguns destes antigos produtos, possuíam moléculas muito tóxicas ao homem e ao meio ambiente, como organomercuriais e hidrocarbonetos aromáticos (Almasi; Almasi, 2005).

Com o advento da “Revolução Verde” no período Pós-Guerra, muitas moléculas químicas passaram a ser usadas neste sentido, surgindo assim, a indústria dos defensivos agrícolas, bem como tornando

popular a sua adoção pelos agricultores mundo afora. Descobriu-se então que era possível “tratar” as sementes dos cultivos, com determinados produtos, a fim de que estas pudessem estar protegidas contra a ação de pragas e moléstias que atacavam inicialmente as plantas.

A evolução dos programas de melhoramento vegetal, atrelados ao lançamento de cultivares que expressam altos potenciais produtivos, bem como da própria indústria fornecedora de insumos e máquinas inovadoras, foram seguidos de técnicas de manejo diferenciadas. A produção agrícola tem se modernizado em velocidade espantosa nas últimas três décadas e na mesma esteira da evolução tecnológica, evoluíram-se também os sistemas de tratamentos de sementes, contribuindo para lavouras com adequado estande e desenvolvimento uniforme das plantas.

A importância do tratamento de sementes é relatada por Borges (2019), na obra que apresenta a Visão Técnica de Dirceu Gassen: "A evolução na agricultura com a necessidade de estabelecer metas de aumento de produção, usando novas cultivares, nutrição equilibrada e outras práticas culturais, exige qualidade total em todos os segmentos, especialmente nas fases de germinação e estabelecimento das plantas nas lavouras de grãos. As culturas com baixa população de plantas como milho, girassol e soja podem sofrer danos severos de pragas nas fases de germinação e de plântula e resultar na redução do potencial de produção das lavouras. Nestes casos, o tratamento de sementes com inseticidas é uma importante estratégia de proteção nas fases de germinação e de plântula garantem o estabelecimento uniforme das populações de plantas na lavoura".

Como exposto, o tratamento de sementes em soja inicialmente tinha um foco mais específico, para proteção ao ataque de pragas, fato que logo foi aperfeiçoado com a inserção de fungicidas e nematicidas, considerando os danos por fitopatógenos de solo. Mais recentemente, vem sendo inserido nas sementes ou em sulco de semeadura, além dos produtos fitossanitários, nutrientes, estimulantes, inoculantes, entre outros.

Não se consegue abordar corretamente a evolução do tratamento de sementes, sem, contudo, fazer uma relação com o setor sementeiro. Especialmente no Brasil, o tratamento de sementes tem acompanhado plenamente as evoluções, avanços e inovações aos quais o setor sementeiro tem sido submetido (Menten; Moraes, 2010). Desta maneira, em praticamente duas décadas, a agricultura nacional evoluiu desde as práticas onde as sementes eram tratadas em uma caixa, tambor ou sobre uma lona, revolvidas manualmente. Aonde os produtos, eram aplicados nas sementes “à olho” com baixíssima precisão e sem maiores preocupações quanto a proteção das pessoas que realizavam esta operação. A evolução se deu para modernos sistemas computadorizados de tratamento, com acompanhamento online da deposição dos produtos, ou seja, com alta precisão e com grande preocupação quanto a segurança do trabalhador e do usuário final.

Atualmente, com o advento do uso dos produtos biológicos em larga escala, esse cenário vem sendo aperfeiçoado. Considerando o uso integrado de defensivos químicos com biológicos na proteção das sementes e plântulas, é necessário o entendimento dos produtos utilizados, formas de tratamentos e aplicações, assuntos que serão abordados nesse capítulo.

Produtos aplicados às sementes

Embora inicialmente, os produtos adicionados às sementes possuíam unicamente o objetivo de conferir algum tipo de proteção, como fungicidas e inseticidas, atualmente, muitos outros são utilizados de forma isolada ou associados.

Para efeito de caracterização, os produtos aplicados às sementes serão classificados como fitossanitários, fertilizantes, bioestimulantes, biorreguladores, inoculantes e outros.

Produtos fitossanitários

Os produtos fitossanitários representam a maior quantidade das substâncias aplicadas às sementes, uma vez que, provavelmente, seja a forma mais consolidada para o controle de doenças transmitidas por elas, especialmente daquelas causadas por fungos. Para a cultura da soja, o tratamento de sementes apesar de já existir e ser usado, passou a ser amplamente adotado a partir do final dos anos 1990, com fungicidas, inseticidas e nematicidas químicos, bem como com a inserção de produtos de origem biológica com ação sobre fitopatógenos de solo (Goulart, 1998; Menten, 2005).

No entanto, o tratamento das sementes não deve ser utilizado como medida isolada para o controle de doenças e ou pragas iniciais nos cultivos (Lucca Filho; Farias, 2019; Menten, 1991). Mas sim como parte de um conjunto de medidas que incluem outras práticas culturais como rotação de culturas, utilização de cultivares tolerantes ou resistentes, tratamento vegetativo, entre outras.

Para o controle de doenças, independente do produto utilizado no tratamento de sementes, esta prática deve seguir as seguintes premissas, sem prejuízos a qualidade das sementes:

- a) Erradicar os microrganismos patogênicos associados às sementes, estejam estes localizados externamente (infestação) ou no interior (infecção) das mesmas, como também proteja-las, juntamente com as plântulas, da ação dos fungos habitantes do solo;
- b) Impedir a transmissão do patógeno da semente para a plântula, dando a ela, certa proteção nos estádios iniciais do seu desenvolvimento;
- c) Reduzir as fontes do inóculo, impedindo desta forma o aparecimento da epidemia no campo;
- d) Reduzir os custos decorrentes da utilização de fungicidas para o controle de doenças na parte aérea da planta, sobretudo no início do desenvolvimento da cultura.

A eficiência do tratamento de sementes visando o controle de doenças, está relacionada com a erradicação do patógeno ou na capacidade protetiva conferida pelo produto. Para que esta eficiência seja alcançada, é necessária a utilização adequada do princípio ativo ou agente biológico e da sua dose/concentração, bem como da correta cobertura do produto nas sementes, no caso de químicos, ou a fixação do agente biológico, em função da forma do tratamento empregada.

No caso dos químicos, quando possuem ação de contato, os denominados de protetores, o desempenho esperado é que erradiquem os microrganismos aderidos às sementes e as protejam daqueles patógenos que estão no solo, enquanto a germinação não ocorra. Tais produtos, pelo fato de atuarem de forma superficial na semente, têm pouca ou nenhuma capacidade de penetrarem nos tecidos embrionários e desta maneira, restringem-se a controlar patógenos associados ao tegumento, ou em casos específicos, logo abaixo deste.

Para o caso de produtos com ação sistêmica, logo após a semeadura, o princípio ativo necessita dissolver-se na solução do solo, para ser posteriormente absorvido pela radícula junto com a água, a fim de conferir a proteção inicial da plântula.

Mas a semente é um ser vivo e assim sendo, é um organismo funcional. Para que as células do embrião, retomem a devida atividade no momento da germinação, a sua reidratação necessita ocorrer. Para sementes de soja por exemplo, o volume de água necessário para isto, chega ao redor de 50% do seu peso inicial (Marcos-Filho, 2015). Portanto, a água a ser absorvida não pode conter substâncias tóxicas às organelas celulares. Desta maneira, é importante que o ingrediente ativo na dose preconizada e utilizada não exerça efeito tóxico à retomada do crescimento do embrião.

Os diferentes grupos químicos aos quais pertencem os fungicidas para tratamento de sementes, lhes conferem determinadas propriedades específicas, o que possibilita serem caracterizados e classificados quanto ao seu espectro de ação. Exemplos destes grupos são os compostos heterocíclicos, os benzimidazóis, os dithiocarbamatos, os triazóis e alguns antibióticos como estreptomicina e aureomicina.

É importante considerar na tomada de decisão, o real objetivo buscado com o tratamento de sementes. Desta forma, é fundamental escolher o ingrediente ativo mais eficiente para controle do alvo danoso e considerar o efeito adicional como benefício paralelo e complementar (Parisi; Medina, 2021). Com relação a compatibilidade entre os produtos, este tema está abordado no capítulo 27.

Atualmente, a investigação científica para o controle de doenças de plantas tem evoluído no sentido do uso de ativos menos agressivos ao meio ambiente, ao aplicador e ao próprio cultivo. Bem como muitos ativos não tem demonstrado eficiência de controle, fato ocasionado pela quebra de resistência das moléculas químicas, e a própria seleção de novos patógenos.

Embora não seja algo tão recente, o uso de produtos de origem biológica, para o tratamento de sementes visando o controle de doenças, tal uso tem se intensificado e merece um destaque especial.

Considerado como tratamento biológico de sementes, a utilização de agentes biológicos, com diferentes formas de ação (assunto descrito no capítulo 17), buscam reduzir ou impedir a ação dos fitopatógenos presentes no solo e tem recebido grandes avanços nos últimos anos, com lançamentos de diversos produtos comerciais.

No Brasil, para o tratamento de sementes de soja, os produtos contemplam na sua maioria como alvos biológicos os principais fungos habitantes do solo e nematoides que acometem a cultura, destacando-se os patógenos *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* e os nematoides *Heterodera glycines*, *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *Rotylenchulus reniformis* e *Pratylenchus brachyurus*. Os produtos comerciais, contam na sua grande maioria com os agentes de biocontrole à base de fungos *Paecilomyces lilacinus*, *Pochonia chlamydosporia*, *Trichoderma asperellum*, *T. harzianum*, *T. koningiopsis* e à base de bactéria *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. velezensis*, *B. thuringiensis*, *B. licheniformis* e *B. methylotrophicus*.

Além dos produtos ofertados pela indústria, mais recentemente vem se avançando o processo de produção denominado de *on-farm*, o que levou a necessidade de regulamentação oficial. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) criou o Programa Nacional de Bioinsumos, tendo como marco legal o Decreto Presidencial 10.375 de 26 de maio de 2020 (Brasil, 2020).

A regulamentação serviu como ponto de partida estabelecendo diretrizes para que produtos biológicos possam ser produzidos e aplicados nas diversas atividades produtivas da agropecuária nacional. Passou-se, desta maneira, a considerar como bioinsumos, os produtos, processos e/ou tecnologias de origem vegetal, animal ou microbiana, destinados à produção, armazenamento ou beneficiamento dos produtos agropecuários. No entanto, é necessário, atenção para a qualidade dos produtos biológicos, fator importante quanto seu potencial de utilização e eficiência agrônômica, assunto abordado no capítulo 29.

Os produtos de origem biológica vieram para contribuir no processo de proteção de sementes e plântulas, portanto, o uso dos quimioterápicos não deve ser desprezado, mas sim, explorado o sinergismo existente entre ambos no manejo integrado de doenças e pragas. De maneira genérica nos cultivos, os defensivos químicos tendem a proteger a semente e na fase inicial de plântula. Já os produtos biológicos, podem estender esse período de proteção, fator importante a ser considerado na tomada de decisão quanto ao uso e interação de defensivos químicos e biológicos.

Nutrientes

As sementes também podem ser usadas como veículo para a fertilização do cultivo. Entretanto, apesar da pequena quantidade possível de ser adicionada a elas, é um facilitador para que micronutrientes sejam aplicados e utilizados pela cultura.

À semelhança dos produtos fitossanitários, os micronutrientes aplicados nas sementes, também necessitam dissolver-se na solução do solo, para que posteriormente sejam absorvidos pelas radículas nos instantes posteriores à germinação e emergência das plântulas de soja.

Muito se tem investigado a respeito da resposta dos micronutrientes aplicados às sementes, estando a literatura, contemplada com inúmeros trabalhos realizados para as mais diversas culturas, tipos de solos e situações de fertilidade. Dentre os micronutrientes, zinco, cobalto, molibdênio, boro, manganês e cobre, são os mais investigados e encontrados em produtos comerciais, especialmente formulados para tal. Apesar dos resultados dos trabalhos de pesquisa nem sempre concordarem sobre a efetividade do seu uso, o que está em muito atrelada às características edafoclimáticas do local do cultivo e da própria cultura em si, a aplicação de micronutrientes via sementes, faz parte do arsenal tecnológico atual à disposição dos agricultores. A maior ou menor eficiência agrônômica do tratamento de sementes com nutrientes será diretamente proporcional a disponibilidade dos mesmos no solo e a adoção de outras técnicas de manejo nutricional, quer seja aplicação no solo, no sulco ou via foliar (Deuner et al., 2015).

Na cultura da soja uso dos micronutrientes cobalto e molibdênio, no tratamento de sementes ou sulco de semeadura, é prática corriqueira, com efeitos já elucidados pela pesquisa. Ainda nesta cultura, os micronutrientes, são recomendados em associação com inoculantes, sendo cofatores enzimáticos imprescindíveis para eficiência das espécies de *Bradyrhizobium*, tema abordado no Capítulo 8.

Bioestimulantes e biorreguladores

Juntamente com a intensificação dos produtos de origem biológica para controle principalmente das doenças, aplicados às sementes, surgiram também os produtos denominados de bioestimulantes e biorreguladores.

A fisiologia vegetal aponta que muitas substâncias de origem orgânica (produzidas pela própria planta), são reguladores de crescimento, como por exemplo os fitohormônios. Surgiu desta forma o conceito dos biorreguladores, que são compostos orgânicos, não nutrientes e que uma vez aplicados às sementes ou à própria planta, em baixas concentrações, podem promover inibir ou modificar processos de crescimento vegetal. Dentre tais substâncias podem ser citadas as citocininas, as giberelinas, as auxinas, bem como os retardadores, os inibidores e o etileno (Morzelle et al., 2017).

Caracterizam-se substâncias bioestimulantes como sendo misturas de um ou mais biorreguladores com outros compostos de natureza química diferente como os aminoácidos, as vitaminas e os sais minerais principalmente. Embora existam produtos comerciais assim classificados à disposição do agricultor para aplicação nas sementes, os resultados da pesquisa não são todos concordantes para os principais cultivos e situações de ambientes.

Ainda podem ser considerados neste grupo de produtos aplicados via tratamento de sementes, os microrganismos ou os metabólitos produzidos por microrganismos, com finalidade específica de proporcionar estímulos aos processos germinativos, a promover o crescimento e a minimizar os danos causados por estresses abióticos (Silva et al., 2020).

Inoculantes

Apesar de terem sido isoladas na natureza por cientistas alemães no final do século XIX, as bactérias fixadoras de nitrogênio passaram a ser usadas de forma comercial em associação com leguminosas nos cultivos, a partir de meados do século seguinte. Aqui no Brasil, seu uso começou a ficar conhecido na cultura da soja a partir dos anos 1950, com cepas de bactérias pertencentes ao gênero *Bradyrhizobium*.

Esta técnica ficou consagrada na sojicultura nacional, sendo hoje um insumo de reconhecida importância para a cultura. Existem variações de formulações inoculantes comerciais para serem aplicados via sementes ou sulco de semeadura, que vão desde pó, turfoso, gel e líquido, constituído por espécies, cepas, combinações de microrganismos e concentração distintas, visando atender a realidade do agricultor.

Não somente as sementes da cultura da soja ou das leguminosas, podem ser inoculadas, mas também de outras espécies, como por exemplo gramíneas como milho, arroz, braquiária e trigo, nas quais podem ser utilizadas cepas da bactéria *Azospirillum*. Tem sido recomendado também, a técnica da coinoculação, por proporcionar vários benefícios para as plantas pela ação conjunta de dois ou mais microrganismos (Hungria et al., 2015). Dentre os benefícios da coinoculação, verifica-se aumento da área radicular, gerando maior aproveitamento dos fertilizantes, favorecendo a planta em situações de estresse hídrico e incremento da produtividade pela maior capacidade de absorção de nutrientes e água pelas raízes (Hungria, 2011). Este assunto é abordado no Capítulo 8.

Recentemente tem surgido no mercado diversos inoculantes, denominados de longa duração, os quais possibilitam que o tratamento seja feito de forma antecipada ao plantio, o que favorece muito a logística de distribuição das sementes e o planejamento da semeadura, no entanto, tal tecnologia ainda precisa ser validada pela pesquisa.

Alguns autores, entretanto, tratam a inoculação como não sendo especificamente um tratamento aplicado às sementes. Independente de tal classificação, a forma de aplicação de bactérias benéficas nas

sementes, é uma etapa que pode ser feita juntamente com o processo do tratamento, ou imediatamente antes da semeadura, usando os mesmos tipos de equipamentos.

Produtos diversos

Durante o processo do tratamento das sementes, também podem ser aplicados outros produtos com finalidades distintas das aqui classificadas, como por exemplo, pós secantes, produtos para aumentar a fluidez na semeadura, corantes, pós de rocha, entre outros. Tais substâncias, na maioria das vezes, não visam proteger contra um agente externo da semente, ajudar nos seus processos fisiológicos ou ainda promover algum tipo de associação da plântula com determinado microrganismo. Mas sim, facilitar sua identificação e melhorar o desempenho da operação de semeadura.

Como métodos alternativos visando a conservação doméstica e em pequena escala de sementes, usa-se de forma não comercial e por vezes artesanalmente, adicionar-se às sementes, substâncias diversas como cinza, pós de rochas, pimenta em pó, extratos secos vegetais, dentre outras.

Por vezes, torna-se difícil a classificação ou categorização de alguns dos produtos aplicados às sementes, tendo em vista a sua vasta aplicação e recomendação em função do registro legal obtido pelo fabricante. Muitas vezes, em função do apelo comercial que é dado, um mesmo produto usado no tratamento de sementes pode ser classificado como fitossanitário, nutriente, estimulante, bioestimulante e biorregulador. Desta forma, a classificação multifuncional do produto pode dificultar o entendimento e pode levar a usos desnecessários ou inadequados.

Todavia, como a agricultura é uma atividade bastante dinâmica, da mesma forma que a pesquisa científica que lhe dá suporte, é possível prever que produtos inovadores, com finalidades distintas sejam desenvolvidos e disponibilizados de forma comercial para que os agricultores possam usar no tratamento das sementes.

Formas de aplicação dos produtos às sementes.

De maneira geral, os diferentes produtos que atualmente estão no mercado, para serem usados na agricultura conjuntamente com as sementes, podem ser aplicados diretamente sobre estas, ou ainda, via sulco de semeadura, durante a realização do plantio. Técnica esta inclusive, muito adotada e recomendada na cultura da soja.

Aplicação diretamente sobre as sementes

Na aplicação diretamente sobre as sementes, têm-se o tratamento propriamente dito, com as diferentes formulações físicas dos produtos. Na sequência será discorrido sobre os principais métodos de aplicação dos produtos nas sementes atualmente em uso.

Aplicação via seca

Os produtos apresentados na forma de pó seco são misturados com as sementes, até que estas fiquem uniformemente cobertas pelo produto. Embora seja bastante simples, este método apresenta algumas desvantagens, quando comparado com outras formas de aplicação.

Os principais fatores limitantes da utilização de formulações aplicadas na forma de pó seco, estão associados com a dificuldade da cobertura uniforme da substância nas sementes e da formação de poeira durante o manuseio, o que resulta na facilidade de inalação pelo operador, contaminação do meio ambiente e grande desperdício de produto.

Na cultura da soja, este método já foi muito utilizado no passado, no entanto, encontra-se em desuso atualmente, tendo em vista as novas formulações de produtos e avanços tecnológicos em máquinas e equipamentos para a aplicação. Mas como exemplo de um produto com formulação pó seco, tem-se ainda, o uso de substâncias deslizantes como o grafite, o qual é utilizado e muitas vezes, sua aplicação é feita na caixa da semeadora, o que não é a melhor forma maneira de usar, como mostra a Figura 1.

Existem no mercado produtos biológicos, inseridos no grafite e com sugestão de aplicação diretamente na caixa de semeadura, tendo como vantagem, a facilidade da aplicação. Entretanto, isto é questionável, pois a distribuição uniforme e aderência à semente, pode ser desigual, conforme discutido anteriormente.



Foto: Silmar Peske

Figura 1. Utilização de grafite na caixa de semeadura.

Aplicação via úmida

Esta forma de aplicação representa a grande maioria das formulações comerciais dos produtos destinados para o tratamento das sementes. Assim, são utilizados produtos formulados nas formas de emulsão (ES), suspensão concentrada (FS), solução (LS), pós solúveis (SS) e suspensão de encapsulado (CF).

A maioria destes produtos, necessita de um veículo para serem aplicados nas sementes, sendo a água o mais utilizado. Desta maneira, para realizar o tratamento, após os produtos serem diluídos em água, forma-se uma preparação de pronto uso (calda). Existe grande variabilidade entre os diferentes produtos com relação à sua diluição em água para a formulação da calda. Alguns necessitam mais e outros menos, mas de maneira geral usa-se em torno de 1,0 a 2,0 mL de água por quilograma de semente tratada. A Figura 2 mostra equipamento para a aplicação de produtos via úmida nas sementes.



Foto: Jean Carlo Possenti

Figura 2. Máquina tratadora de sementes para aplicação via úmida.

Obviamente, os volumes de água, podem apresentar variações em função da formulação do produto, bem como do próprio equipamento utilizado na operação. É necessário ficar esclarecido, que a água neste caso, não possui outra função a não ser a de servir de veículo para levar o produto até a superfície das sementes. Existem produtos, os quais não necessitam ser diluídos em água, pois suas formulações comerciais já são preparações de pronto uso. Neste caso, suas apresentações comerciais são na forma líquida.

A dosagem de todos estes produtos se dá em razão da quantidade aplicada por massa de sementes tratadas. Entretanto, com o avanço tecnológico dos equipamentos tratadores de sementes, surgem questionamentos de ordem prática sobre a efetividade da quantidade do ingrediente ativo nesta situação. Se esta deve ser feita como se faz atualmente, em razão da massa de sementes, ou, se deveria levar em conta a superfície tegumentar específica das sementes, ou ainda, por número de sementes. Provavelmente, é um importante questionamento sobre o assunto que poderá no futuro próximo, exigir respostas científicas.

Para o uso de produtos biológicos nessa condição de tratamento, as formulações comerciais devem ser diluídas na água somente no momento do tratamento, evitando preparações prévias, que podem propiciar o início da germinação de esporos e, conseqüente, danos na viabilidade dos agentes biológicos. Tais formulações, devem ser inseridas no final do processo de tratamento, visando evitar misturas de caldas químicas com estas, reduzindo possíveis problemas incompatibilidades biológicas, químicas ou físicas na preparação de pronto uso.

Aplicação via imersão

A imersão, geralmente realizada em uma solução com água como solvente, é uma forma de tratamento, onde as sementes devem ser semeadas logo após o tratamento. Caso necessitem ser armazenadas na sequência, as sementes deverão ser novamente secas para retirada da água de impregnação dos tecidos. Na Figura 3, mostra-se a forma de fazer o tratamento de sementes por imersão.



Foto: Géri Eduardo Mengello

Figura 3. Tratamento de semente por imersão.

Tal fato se justifica, pois as sementes, ao serem imersas em uma solução aquosa para tratamento com uma concentração definida, em um determinado período, terão invariavelmente, seu conteúdo de água aumentado. Na cultura da soja de forma comercial, é um método que não possui empregabilidade. De modo geral, esta forma de tratamento de sementes, adota baixas concentrações dos ingredientes ativos e é mais usada em pesquisa para testes de produtos, ou ainda, com pequenos volumes das sementes de espécies olerícolas, ornamentais ou florestais.

Aplicação na forma pastosa ou *Slurry*

Esta técnica é uma variação da aplicação via líquida, pois o produto não é completamente diluído em uma solução aquosa (Figura 4). A técnica permite a aplicação do produto em forma pastosa, com menor quantidade de água, havendo assim, um leve umedecimento superficial do tegumento das sementes.



Foto: Robson Ribeiro

Figura 4. Produto concentrado na forma de *slurry*, usado para tratar sementes.

Sendo facilmente evaporável, não se exige uma posterior secagem das sementes depois da aplicação do produto. De maneira geral, esta técnica é usada mais na pesquisa, em situações controladas de laboratório e também para fins de testes de produtos.

Aplicação na forma de pulverização

É a forma de aplicação comumente utilizada no tratamento de grandes volumes de sementes pelas máquinas tratadoras industriais. Esta operação é realizada em equipamentos próprios para este fim, que possuem a capacidade de pulverizar a calda do produto (ou mistura de produtos), depositando-a sobre as sementes na forma de pequenas ou minúsculas gotas.

As sementes são imediatamente misturadas, por meio de dispositivo apropriado que realiza uma homogeneização a fim de proporcionar distribuição e cobertura uniforme do produto sobre o tegumento. A Figura 5 mostra um equipamento que realiza a pulverização da calda sobre as sementes.



Foto: Jean Carlo Possenti

Figura 5. Equipamento de tratamento industrial via pulverização das sementes.

Quando se utiliza tratamento úmido com tais equipamentos, em geral observa-se boa aderência da calda e reduzida formação de poeira após tratamento, durante o manuseio da semente.

As máquinas industriais usadas para grandes volumes de sementes, geralmente permitem que na etapa final do tratamento, sejam aplicados pós inertes com a finalidade de secagem do eventual excesso de umidade do tegumento. Os pós secantes, além do aspecto cosmético que conferem após o tratamento, também favorecem que as sementes deslizem melhor nos sistemas das semeadoras.

Para a cultura da soja, este método é em larga escala, o mais utilizado, em função da sua praticidade e de máquinas tratadoras desenvolvidas para tal.

Frente ao crescente uso de produtos biológicos, a utilização dessa modalidade de tratamento é altamente recomendável, para evitar que o produtor necessite retratar a semente na propriedade. Assim, a indústria sementeira tem se adequado e inserido os agentes biológicos ao final do processo de tratamento industrial das sementes, evitando problemas de incompatibilidade.

Aplicação na forma de fumigação

A fumigação é uma forma de aplicação de produtos fitossanitários às sementes, relacionada à proteção contra o ataque de pragas durante o armazenamento. As sementes de soja, comumente são atacadas durante o seu armazenamento por besouros e traças, necessitando o controle químico (Lorini et al., 2015).

Não utiliza equipamentos tratadores, uma vez que o produto comercial é apresentado na forma de pastilhas de pronto uso, ou ainda na forma de gás. No caso de pastilhas, quando retiradas da sua embalagem original, ocorre uma reação com a umidade relativa do ar, liberando gás volátil (agente fumigante), que contém o ingrediente ativo com amplo espectro de ação para as pragas em seus diferentes estágios.

Em si, a fumigação pode não ser considerada um tratamento de sementes, uma vez que está relacionada à prática de expurgo para o armazenamento, o que é considerada uma medida curativa.

Independente da classificação que se dá ao método, é necessário cuidado com o ingrediente ativo usado. Para evitar danos às sementes, que podem ocasionar a sua morte, não se deve realizar a fumigação com produtos à base de brometo de metila, que é tóxico para as células do embrião. Deve-se optar por produtos formulados à base de fosfina ou fosfeto de alumínio, os quais não apresentam tal nível de toxicidade.

Vale destacar, que tais ativos químicos são biocidas, portanto, altamente danosos a qualquer agente biológico, não devendo ser utilizados após ter sido inseridos tratamentos com produtos biológicos nas sementes.

Aplicação na forma de peletização

Em si, a peletização de sementes não é um tratamento, pois trata-se da aplicação de substâncias inertes às sementes que lhes conferem aumento de tamanho e padronização, por exemplo, formando um *pellet*. Com sementes de espécies olerícolas, ornamentais ou forrageiras, juntamente com as substâncias adesivas (goma arábica ou acetato de celulose) e inertes (talco ou pó de rocha), podem ser aplicados produtos fitossanitários de origem química ou biológica, bem como, micronutrientes.

É uma prática interessante, principalmente para sementes das espécies apontadas e que também, pode ser complementada com aplicação de um *film coating* após o processo, denominada peliculização mediante o uso de polímeros específicos.

Na cultura da soja, tem-se adotado a aplicação de polímeros na etapa final do tratamento via pulverização, com a finalidade da retenção do princípio ativo junto às sementes, impedindo que parte deste seja lixiviado (Fagundes et al., 2017). A Figura 6 mostra em detalhes sementes de soja com e sem a aplicação do polímero após o tratamento.

A Figura 7 ilustra a perda de parte do ingrediente ativo aderido ao tegumento de sementes de soja quando não se usa um polímero, em uma situação de solo arenoso.



Fotos: Hyago Dalavia Peixoto

Figura 6. Sementes de soja com (a) e sem (b) polímero.



Foto: Hyago Dalavia Peixoto

Figura 7. Sementes sem uso de polímero à esquerda e com polímero à direita.

Aplicação no sulco de semeadura

É uma forma de aplicação do(s) produto(s) no momento da semeadura e que não somente as sementes recebem o(s) ativo(s), bem como uma estreita faixa de solo. Prática interessante, já usada nas décadas de 1980 e 1990 com inseticidas organofosforados e carbamatos para controle de lagartas de solo na cultura do milho principalmente, ressurgiu na década passada, com o advento dos produtos de origem biológica.

Alguns trabalhos de pesquisa apontam que é melhor aplicar determinados produtos biológicos diretamente no solo. Pois de fato, é onde os microrganismos, terão que efetivamente se estabelecer. E ao contrário, quando aplicados nas sementes, além de possíveis incompatibilidades com demais produtos do tratamento, existe o problema de dosificação e a conservação da sua viabilidade até o momento da semeadura.

A indústria de máquinas e implementos, oferta diferentes equipamentos pulverizadores a serem instalados nas semeadoras, para a aplicação diretamente no sulco de semeadura. A Figura 8. Mostra uma semeadora equipada com sistema de tratamento em sulco de cultivo.



Foto: Sérgio Miguel Mazaro

Figura 8. Semeadora equipada com sistema de tratamento em sulco de cultivo.

Desta forma, os produtos são aplicados de forma líquida, necessitando ser diluídos em água para elaboração da calda de aplicação, a qual se processa com um equipamento dotado de tanque reservatório. O sistema conta com uma bomba de pressão acionada de forma elétrica, sistema de regulação de pressão e bicos pulverizadores, geralmente de ponta de jato plano do tipo leque de ângulo 80° ou 110° .

É importante chamar a atenção, que na aplicação em sulco, se faz necessária a correta calibração do equipamento, para que haja precisão na distribuição dos produtos (Figura 9). A mistura do produto comercial com água, forma a calda de aplicação e esta é que deve ser calibrada. Quando se aplicam produtos biológicos, em geral recomenda-se que o volume de calda seja de 40 a 50 litros por hectare. O volume de calda de aplicação poderá variar em função de vários fatores, como por exemplo, o tipo da formulação, o tipo de solo e as condições climáticas.

Dessa maneira, torna-se importante ressaltar, que independente da forma utilizada para o tratamento das sementes, a deposição do(s) ingrediente(s) ativo(s) tanto de origem química como biológica nas sementes, deve proporcionar uma cobertura uniforme. Pois como já mencionado, a quantidade do ativo depositado no tegumento das sementes, geralmente, é muito pequena. Além da cobertura uniforme, outro fator preponderante a ser observado é que o método de tratamento garanta a correta dosificação do produto no volume de sementes tratado.

Classificação dos tratamentos

A aplicação dos produtos nas sementes antes da semeadura, pode ser classificada de acordo com o local onde a operação ocorre. O tratamento pode ser realizado ainda na unidade de beneficiamento de sementes (UBS), ou após este, já nas revendas de insumos ou cooperativas, bem como também, na propriedade do agricultor.



Foto: Sérgio Miguel Mazaro

Figura 9. Calibragem do sistema de distribuição da calda no sulco de cultivo.

Tratamento realizado na Unidade de Beneficiamento de Sementes (UBS)

Esta forma de tratamento, é conhecida no meio sementeiro, como TSI ou TIS (Tratamento de Sementes Industrial ou Tratamento Industrial de Sementes), os quais significam a mesma coisa. Sendo realizado na UBS, geralmente é feito com máquinas industriais, as quais tratam volumes expressivos de sementes. Tais máquinas podem ser concebidas de acordo com seu projeto, para tratarem em fluxo contínuo de sementes, ou então, volumes determinados a cada vez, denominados de “bateladas”.

Embora diferenciem-se quanto ao seu funcionamento, o princípio é o mesmo, aplicar os produtos de forma líquida pulverizada às sementes, proporcionando uma adequada cobertura (Figura 10). Tais máquinas, também podem aplicar produtos na forma de pós secos as sementes, geralmente, já como produtos de acabamentos ao tratamento.

O tratamento industrial, apresenta vantagens de garantir boa precisão de dosificação e deposição na superfície das sementes, controle dos volumes tratados e misturas totalmente assistido por tecnologia digital e muitas vezes, com acompanhamento remoto, por parte do fabricante dos químicos. Também, pode-se afirmar que outras vantagens importantes deste sistema, seriam a baixa exposição humana aos ativos durante o tratamento e a reduzida produção de embalagens vazias, uma vez que os produtos são acondicionados na maioria das vezes em embalagens retornáveis.

Como desvantagens principais do sistema industrial, tem-se a reduzida liberdade de combinações de produtos de diferentes fabricantes. Pois as máquinas, tratadoras, quase sempre são instaladas nos sementeiros, em sistemas semelhantes à comodatos, entre a empresa multiplicadora de sementes e a fabricante dos produtos. Desta maneira, reduz-se a possibilidade de misturas de ativos de fabricantes



Foto: José Ricardo Bagateli

Figura 10. Sementes de soja tratadas na USB e com pós secante.

diferentes, o que por vezes, também acaba impactando nos custos.

Entretanto, tem-se notado na prática, outro fator limitante no caso do tratamento realizado na UBS. Quando o agricultor recebe na propriedade a semente já tratada, mas deseja fazer uso de produtos biológicos, dificilmente irá retratar novamente. Desta maneira, quando não possui semeadoras equipadas com distribuição de biológicos no sulco de cultivo, muitas vezes não aplica os biológicos ou é frequente o cometimento de erros, como a distribuição de tais produtos diretamente nas caixas da semeadora (Figura 11).

Isto pode parecer um detalhe sem importância em um primeiro momento, mas que irá fazer toda a diferença na eficiência deste insumo, pois não terá uma distribuição homogênea no tegumento das sementes. Sem contar os frequentes erros de dosificação que ocorrem.

A indústria necessita adequar os equipamentos e a logística em função do uso dos produtos biológicos e como já abordado, sua aplicação deve ser no final do processo, após inserção dos químicos e, finalizar o tratamento com o uso de pó-secante, conforme demonstrado em semente tratada com agente biológico em TSI (Figura 12).



Figura 11. Produtos biológicos aplicados de forma inadequada na caixa da semeadora (11a) e imagem aproximada (11b).



Figura 12. Aplicação de produto de origem biológica no final do processo de tratamento das sementes em UBS.

Tratamento realizado na revenda de insumos ou nas cooperativas

Em algumas regiões do país, sobretudo nos estados do sul, o tamanho médio das lavouras não é muito grande. Isto faz com que os agricultores, geralmente comprem seus insumos via revendedores ou cooperativas. No caso das sementes, ainda é comum que a compra seja sem nenhum tratamento e em consenso com o agrônomo da sua assistência técnica, o agricultor opta por um tratamento de sua preferência.

Neste caso, algumas revendas e cooperativas possuem máquinas tratadoras menores do que as usadas no tratamento industrial. Geralmente são máquinas de menor capacidade e sem controles

computadorizados. Tais máquinas, apesar de serem acionadas por energia elétrica, não são automatizadas e envolvem considerável mão de obra na operação e, desta forma, proporciona exposição dos operadores aos produtos.

Sobre a dosificação dos ingredientes ativos, pode-se dizer que é menos precisa do que nas máquinas industriais. Entretanto, quando bem reguladas e operadas, o tratamento das sementes é adequado. Sobre a forma de aplicação dos produtos, estas máquinas usam uma calda líquida, à semelhança das máquinas industriais. Entretanto, as máquinas mais simples, não usam bicos pulverizadores para aplicar a calda nas sementes. Mas sim, um sistema de gotejamento da calda sobre as sementes e em um caracol, propiciando a mistura e a cobertura.

Alguns agricultores preferem esta forma de tratamento, pela possibilidade de escolha e mistura de produtos fitossanitários de diferentes fabricantes. Ressalta-se que muitos consultores técnicos, também escolhem esta forma, pela mesma justificativa, lhes dando a possibilidade de flexibilização na emissão da receita agrônômica, que é muito interessante.

Mas deve-se ressaltar a importância na avaliação de todos os aspectos, pois este tipo de tratamento, gera volume considerável de embalagens vazias, possibilidade de erros de dosificação, risco de contaminação ambiental, além da exposição dos operadores.

Com o advento dos produtos biológicos, muito agricultores tem recebido as sementes tratadas de revendas e cooperativas e os que não possuem semeadoras equipadas com aplicadores via sulco de semeadura, retratam a semente com a inserção dos agentes biológicos. Técnica esta que ocasiona retrabalho, bem como pode causar danos às sementes, além de problemas de erros na dosificação.

Tratamento realizado na propriedade

Denominado e conhecido por tratamento *on-farm*, é uma modalidade muito usada principalmente em regiões onde as áreas de lavoura são grandes. Este tipo de tratamento, se assemelha ao tratamento realizado nas revendas de insumos ou cooperativas, sendo que inclusive, pode usar máquinas semelhantes.

Entretanto, a indústria de implementos agrícolas, têm desenvolvido e disponibilizado no mercado, máquinas tratadoras que podem ser acopladas ao sistema de engate de terceiro ponto dos tratores, acionadas pela tomada de força e que, permitem tratar grandes volumes de sementes (Figura 13), com boa qualidade. Trata-se de um nicho de mercado específico, para propriedades que cultivam grandes extensões de lavouras e que demandam da mesma forma, maior volume de sementes.

Com relação às vantagens e desvantagens desta prática, pode-se considerar que basicamente sejam as mesmas daquelas apontadas quando o tratamento ocorre nas revendas de insumos ou nas cooperativas. Destacando-se como principais vantagens, a flexibilização para misturas de produtos e, para o caso do uso daqueles de origem biológica, a redução do tempo entre o tratamento e semeadura. Parece que nesta última vantagem apontada, reside a principal justificativa para que muitos agricultores prefiram esta modalidade de tratamento.

Por outro lado, é importante considerar, que quando realizado da forma *on-farm*, a equipe técnica deve ser treinada para garantir a qualidade e segurança da operação, realizando um tratamento de sementes com exata dosificação e recobrimento uniforme. É muito comum neste tipo de tratamento ocorrer a



Fotos: Dirceu Luiz Broch

Figura 13. Máquina para tratar grandes volumes de sementes, acoplável ao sistema de engate de três pontos dos tratores e detalhe do serviço realizado.



Fotos: Géri Eduardo Meneghelli

Figura 14. Detalhe de recobrimento inadequado (A) e adequado (B) proporcionado pelo tratamento em sementes de soja.

deposição desuniforme da calda sobre o tegumento das sementes (Figura 14-A), problema que deve ser evitado para garantir a eficiência dos produtos aplicados, buscando-se sempre a correta dosificação e recobrimento (Figura 14-B).

Considerações finais e perspectivas futuras

Fatores como a qualidade das sementes, os produtos e suas formulações, o preparo da calda e suas associações, forma de tratamento e equipamentos utilizados são aspectos importantes a serem considerados e que, influenciam na qualidade final do trabalho realizado.

O tratamento das sementes é um fator determinante para a manutenção da população de plantas no campo. Por outro lado, é importante ressaltar que deve verificar a alta qualidade do lote de sementes,

sobretudo a qualidade fisiológica. Pois o tratamento por si só, não melhora os atributos de (vigor e germinação) de um lote de sementes.

Existe uma série de fatores que podem causar a redução da qualidade das sementes e entre eles se destacam, os danos mecânicos, condições adversas de clima, dano por insetos e microrganismos e condições inadequadas durante o armazenamento. Para a produção de sementes de qualidade garantida, primeiro se deve considerar o manejo adequado dos campos de produção. Adicionalmente, somam-se a isto a utilização de máquinas e equipamentos adequados durante os processos de colheita, secagem e beneficiamento, armazenamento em local onde a temperatura e umidade relativa do ar sejam adequadas para minimizar a sua atividade metabólica.

Os produtos usados e as suas formulações, também assumem papel de importância nos resultados obtidos. A maior ou menor eficiência do tratamento das sementes, independentemente de como é realizada a sua aplicação, é diretamente dependente da qualidade e especificidade dos produtos utilizados. Mais especificamente deve-se atentar quanto ao tipo da sua formulação, a concentração do produto, o que impacta na facilidade de aplicar, na sua estabilidade além das suas propriedades adesivas na superfície da semente.

A prescrição da receita agrônômica e o preparo da calda, principalmente nos equipamentos não totalmente automatizados, devem ser realizados com extrema precisão. O volume a ser aplicado para proporcionar adequada cobertura, bem como a presença de adjuvantes adesivos, diluição ou não com água e sua quantidade adequada para preparo da calda, devem receber especial atenção. Ainda, atentar para a possibilidade de misturas com diferentes substâncias e suas possíveis reações de sinergismo e/ou antagonismo físico, químico e biológico, que poderão ir desde a inativação dos produtos (incompatibilidade), até em casos mais graves, reações severas de fitotoxicidade sobre a germinação das sementes.

O sistema de distribuição do defensivo sobre as sementes, parte fundamental do equipamento utilizado, deve ser conhecido e levado em consideração no momento de prescrição da receita para o tratamento de sementes. A existência da possibilidade de monitoramento do processo de tratamento, bem como sobre a precisão no sistema de dosificação e aplicação e, exposição do operador aos produtos químicos e biológicos usados, devem ser devidamente considerados.

Com relação ao uso de agentes biológicos no tratamento das sementes em associação com produtos químicos, deve-se sempre considerar problemas de incompatibilidades, limite de calda na semente, excesso de manuseio e consequentes danos mecânicos. Nesse sentido, deve-se sempre considerar a possibilidade que os produtos biológicos sejam aplicados via sulco de semeadura. Desta maneira, tanto para inoculantes como para os fungicidas, nematicidas e inseticidas microbiológicos esta modalidade de aplicação é a mais recomendada.

Referências

ALMASI, S.; ALMASI, R. History of seed treatment. *Biljni Lekar (Serbia and Montenegro)*, v.31, n.6, p. 693-697, 2005.

BRASIL. Decreto Nº 10.375, de 26 de maio de 2020. **Institui o Programa Nacional de Bioinsumos e o Conselho Estratégico do Programa Nacional de Bioinsumos.** Disponível em: www.in.gov.br/en/web/dou/-/decreto-n-10.375-de-26-de-maio-de-2020-258706480. Acesso em: 14 jun. 2021.

BORGES, M. J. (Ed.). *A visão técnica de Dirceu Gassen*. Passo Fundo: Aldeia Norte Editora, 256p. 2019.

DEUNER, C.; MENEGHELLO, G. E.; BORGES, C. T.; GRIEP, L., ALMEIDA, A. S.; DEUNER, S. Rendimento e qualidade de sementes de soja produzidas sob diferentes manejos nutricionais. *Revista de Ciências Agrárias*, v.38, n. 3, p. 357-365, 2015.

FAGUNDES, L. K.; NUNES, U. R.; PRESTES, O. D.; FERNANDES, T. S.; LUDWIG, E. J.; SAIBT, N. Rice seed treatment and recoating with polymers: physiological quality and retention of chemical products. *Revista Caatinga*, v. 30, n. 4, p.920-927, 2017.

GOULART, A. C.P. *Tratamento de sementes de soja com fungicidas*: recomendações técnicas. Dourados: EMBRAPA-CPAO, 1998. 32p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Circular Técnica, 8).

HUNGRIA, M. *Inoculação com *Azospirillum brasilense**: inovação em rendimento a baixo custo. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 36p. (Embrapa Soja. Documentos, 325).

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Soybean seed co-inoculation with *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense*: A new biotechnological tool to improve yield and sustainability. *American Journal of Plant Sciences*, v.6, p.811-817, 2015.

LORINI, I.; KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. B.; HENNING, A. A.; HENNING, F. A. *Manejo integrado de pragas de grãos e sementes armazenadas*. Brasília: Embrapa, 1 ed. 2015, 84p.

LUCCA FILHO, O. A.; FARIAS, C. R. J. Patologia de Sementes. In: PESKE, S.T.; VILLELA, F.V.; MENEGHELLO, G.E. (Org.). *Sementes: Fundamentos científicos e tecnológicos*. 4 ed. Revisada. Pelotas: Becker & Peske, 2019, p. 259-354.

MARCOS FILHO, J. *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. Londrina: Abrates, 2015. 659 p.

MENTEN, J. O. M. Importância do tratamento de sementes. In: WETZEL, M.M.V.S. (Ed.) *Patógenos em sementes*: detecção, danos e controle químico. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 1991, p. 203-204.

MENTEN, J. O. M.; MORAES, M. H. D. Tratamento de sementes: histórico, tipos, características e benefícios. *Informativo ABRATES*, Londrina, v.20, n.3, p.52-53, 2010.

MENTEN, J. O. M. Evolução dos produtos fitossanitários para tratamento de sementes no Brasil. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.) *Sementes: qualidade fitossanitária*. Viçosa: UFV, 2005, p.333-374.

MORZELLE, M. C.; PETERS, L. P.; ANGELINI, B. G.; CASTRO, P. R. C.; MENDES, A. C. C. M. *Agroquímicos estimulantes, extratos vegetais e metabólitos microbianos na agricultura*. Piracicaba: ESALQ/USP, 2017. 94p.

PARISI, J. J. D.; MEDINA, P. F. *Tratamento de Sementes*. Disponível em: www.iac.sp.gov.br/imagem_informacoestecnologicas/81.pdf. Acesso em: 23 mar. 2021.

SILVA, M. da; SIEGA, T. S.; FELICITI, M. S.; TOZETTO, L. C.; MAZARO, S. M.; POSSENTI, J. C. Desempenho fisiológico de sementes olerícolas tratadas com micorriza endofítica. *Braslian Journal of Development*, v.6, n.8, p.59381-59390, 2020.

Tecnologia de aplicação foliar de bioinsumos

Rone Batista de Oliveira
Ulisses Rocha Antuniassi
Elisângela de Souza Loureiro
Luis Gustavo Amorim Pessoa
Fábio Henrique Rojo Baio

Introdução

O uso em larga escala dos bioinsumos no Brasil e as tecnologias para sua aplicação não terá a mesma história inicial dos produtos químicos sintéticos. Isto porque já utilizará uma tecnologia de aplicação avançada, impulsionada, e, que é parte fundamental de todo o desenvolvimento tecnológico presente na agricultura atual. Possivelmente, tudo isto veio de uma grande demanda da indústria química e exigência da sociedade por produção de alimentos mais saudáveis e técnicas de aplicações mais seguras para o homem e o ambiente. Com isso, a tecnologia de aplicação ganhou mais visibilidade da sua importância e tornou-se uma ciência aplicada e exigida em todos os sistemas de produção agrícola.

O ano de 2020 foi um marco histórico para o país, em termos de registro de produtos biológicos formulados de baixo impacto ambiental. O mercado de controle biológico cresce em ritmo acelerado no mundo. Em 2020, movimentou mais de US\$ 5 bilhões, com incremento equivalente a US\$ 2 bilhões com relação ao ano anterior. No Brasil, o setor apresentou crescimento de mais de 15%, superior a outros países cujo incremento ficou na ordem de 10%. Tal resultado possibilitou ao país a exportação dessa tecnologia para outros países, como o uso de drones e de técnicas de georreferenciamento para liberação de insetos encapsulados, mostrando ser uma estratégia assertiva e eficiente para o manejo fitossanitário (CropLife, 2021).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) lançou em 2020 o Programa Nacional de Bioinsumos (Programa Nacional de Bioinsumos, 2020) que prevê o uso de ativos biológicos, microbiológicos, inoculantes, semiquímicos, bioquímicos, extratos vegetais e reguladores de crescimento, proporcionando o registro de 95 produtos, no ano do seu lançamento. Por meio do Ato n 70 de 2021 do Departamento de Sanidade Vegetal e Insumos Agrícolas da Secretaria de Defesa Agropecuária, mais 15 novos produtos microbiológicos formulados foram registrados, a partir de agentes biológicos de controle de pragas e doenças, totalizando 411 produtos de baixo impacto, que podem ser utilizados tanto na agricultura convencional quanto na orgânica (Mapa, 2022).

Os agentes microbiológicos de controle correspondem aos microrganismos (fungos, bactérias, vírus e protozoários) (CropLife, 2021), os quais apresentam ação sobre insetos, ácaros, fitopatógenos, fitonematoides e plantas daninhas, além de possibilitar recurso para a nutrição de fertilizantes no solo. Eles podem ser incorporados na formulação de produtos agrícolas ou fazerem parte de uma tecnologia que melhora a eficiência de controle das pragas, doenças agrícolas e disponibilidade de nutrientes as plantas.

Em termos de tecnologia de aplicação de produtos biológicos via pulverização hidráulica estão sujeitos às mesmas influências que interferem na aplicação nas culturas, como com qualquer outro produto químico. Neste caso, não podemos deixar de praticar todo o conhecimento e conceitos que foram e são fundamentais nas aplicações dos produtos químicos, tais como a escolha correta da ponta de pulverização para atender de forma adequada o tamanho de gotas e o volume de aplicação, adequação aos tipos de alvos, realização de ajustes operacionais de altura de barra, pressão de pulverização, velocidade de deslocamento, espaçamento entre pontas para manter uma deposição uniforme, inspeções periódicas para as regulagens, calibrações e manutenções para o bom desempenho do pulverizador e respeitar as condições meteorológicas no momento das aplicações para que as pulverizações aconteçam com qualidade, segurança e eficiência.

Portanto, neste capítulo trata-se dos principais tópicos que ainda necessitam de muita pesquisa e desenvolvimento científico para o sucesso da tecnologia de aplicação de produtos biológicos, tais como, os fatores que antecedem o preparo de caldas, os sistemas de agitação, o local e tempo de armazenamento da calda, os tipos de formulações e adjuvantes e a interação biológica destes fatores com os componentes dos circuitos hidráulicos dos pulverizadores para que as aplicações aconteçam de forma eficiente e eficaz.

Formulações dos produtos biológicos

Conhecer os tipos de formulações dos produtos é um dos principais fatores que antecedem o preparo de calda para reduzir os riscos de incompatibilidades da mistura. A formulação diz respeito a forma física com a qual a parte biologicamente ativa do produto biológico é apresentada ao mercado.

Quando um produto fitossanitário está sendo desenvolvido, as propriedades do ingrediente ativo normalmente determinam a escolha da formulação que pode ser usada para produzir um produto consistente e comercializável (Oliveira et al., 2021). A formulação de um produto fitossanitário cumpre o objetivo de permitir melhor dispersão do formulado no veículo, além de torná-la mais adequada para uso, aumentar a eficiência biológica, reduzir a toxicidade, reduzir a fotodecomposição e volatilização, proporcionar maior estabilidade e facilitar o manuseio (quando possível).

A maioria das formulações dos produtos biológicos são desenvolvidas para serem solubilizadas em água. A água é o solvente universal no preparo de caldas e pode influenciar na calda final em função da qualidade e quantidade. A qualidade da água está relacionada com as características físicas e químicas, tais como o pH, solubilidade, concentração de cátions, dureza, turbidez e temperatura. Todas estas características podem ser alteradas pela fonte de captação de água (rios, açudes, poços artesanais) e estação do ano (inverno, outono, primavera e verão).

Na Figura 1 está apresentada as principais formulações utilizadas nos produtos microbiológicos registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa, 2022). Foram computados 302 produtos microbiológicos, divididos em bactericida, inseticida, fungicida, nematocida e acaricida. Os microbiológicos com ação inseticida compõem o maior grupo com 179 produtos registrados (59%) e com predomínio da formulação Pó molhável - WP (48%) e Solução Concentrada - SC (26%). Os com ação fúngica são 49 produtos (16%) e com predomínio da formulação SC (51%) e WP (25%). Com ação nematocida são 45 produtos (15%) e com predomínio da formulação SC (44%) e WP (24%). Com ação acaricida são 25 produtos registrados (8,5%), sendo o predomínio de formulação WP (96%) e Concentrado Solúvel - SL (4%). Com ação bactericida é o menor grupo com 4 produtos registrados (1,5%), sendo 75% com formulação SC e 25% WP.

Em geral, observa-se um predomínio da formulação WP (40%), SC (28%) e Concentrado Emulsionável - EC (5%) e Grânulos dispersíveis - WG (3,5%) representando estas formulações mais de 76% do total de formulações presentes nos produtos biológicos.

As formulações são divididas segundo seu estado físico, como sólidas ou líquidas. As formulações sólidas têm a vantagem no transporte e na armazenagem, devido as embalagens ocuparem menos espaço se comparadas com as formulações líquidas. Outra vantagem é o sistema de descarte, que não necessita de se realizar a tríplex lavagem e o resíduo nas embalagens é menor, porém é necessário armazenar em locais adequados. A poeira que ocorre quando se trabalha com formulações sólidas de baixa granulometria é perigosa, causando sérios danos ao preparador da calda. Trabalhar com estas formulações, principalmente com WP, exige extrema atenção sobre a qualidade do EPI, manuseio de forma que promova pouca geração de poeira. Além do fator segurança, a poeira representa perdas econômicas.

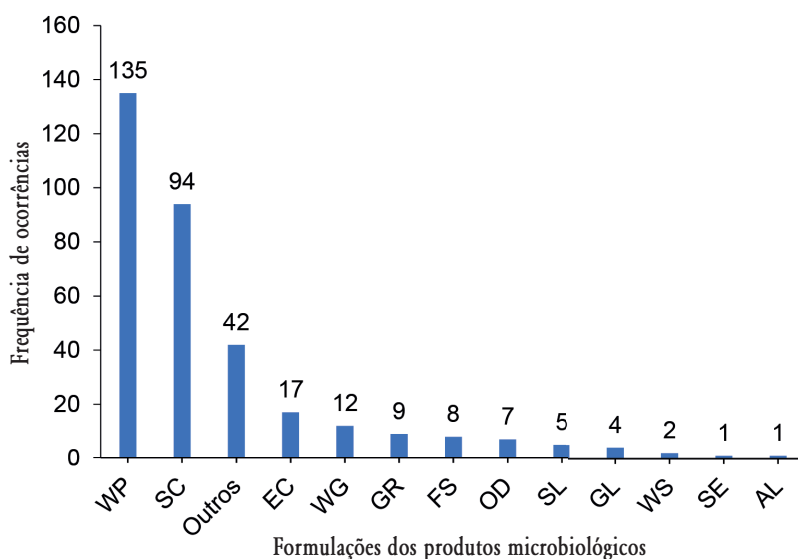


Figura 1. Principais formulações dos produtos biológicos registrados no Mapa.

Fonte: Mapa (2022).

Produtos formulados sólidos necessitam de maior atenção no momento de preparo da calda, devido a diluição dificultada e se não houver a presença de agitação suficiente, podem apresentar sedimentação ou floculação do produto, reduzindo a eficiência da aplicação.

Sobre as formulações líquidas, estas facilitam a dosagem do produto, tornam o manuseio mais prático e aumentam a segurança do aplicador. Dosar produtos líquidos é mais simples pelo fato de não ter que usar balança, ausente em muitos lugares. Trabalhar com vasilhames plásticos para dosar os produtos torna o procedimento mais simples. Formulações líquidas são de fácil diluição, devido a quantidade de aditivos apresentados, fazendo com que reduza as chances de erro no preparo das caldas. Por se tratar de um líquido, não existe a chance de ocorrer poeira do produto, tornando-o mais seguro.

Observa-se que as formulações apresentam diferentes níveis de solubilidade (Figura 2), necessitando de atenção com as de menor solubilidade na agitação de calda, na escolha de filtros e de pontas de pulverização. Cuidados simples podem ser citados, tais como acionar o sistema de agitação no momento do preparo de calda, observar dentro do tanque de pulverização o nível de agitação e/ou turbilhonamento da calda. A aplicação de uma única formulação é fácil de prever os problemas e os cuidados para evitá-los, uma vez que é conhecida a formulação e a sua solubilidade, porém não é muito comum na prática.

Gan-Mor e Matthews (2003) reportam a necessidade do desenvolvimento de novas formulações para produtos biológicos, principalmente formulações que permitam uma maior facilidade de aplicação e diminuição da problemática das suspensões, como a separação da solução em fases. Esse tipo de desenvolvimento até pode promover uma maior adoção da tecnologia de uso de produtos biológico por parte dos agricultores.

Assim sendo, em função da disponibilidade atual das formulações dos produtos biológicos atuais, é muito importante a preparação imediata da calda no ato do reabastecimento do

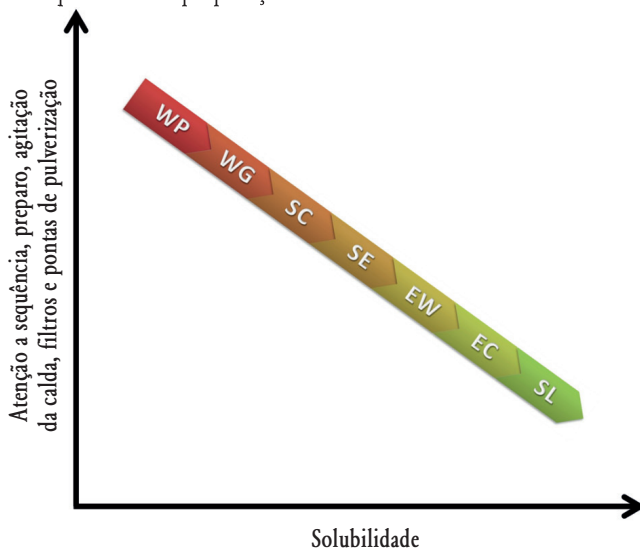


Figura 2. Relação do tipo de formulação com a solubilidade em água e a atenção necessária com o sistema de agitação de calda e componentes do sistema de pulverização.

Fonte: Oliveira et al. (2021).

pulverizador, pois quando interromper a agitação da calda, é alta a probabilidade de iniciar o processo de separação de fases da calda.

Compatibilidade da mistura em tanque entre grupos químicos e biológicos

O conhecimento da especificidade de cada produto e do número de produtos que constituirão a calda final de aplicação é extremamente necessário para o entendimento do risco de incompatibilidade física, química e biológica da mistura envolvida no processo de preparo e aplicação.

Embora atualmente haja uma variedade de produtos biológicos sendo utilizados no controle de pragas, muitas vezes sua aplicação ainda é realizada em mistura de calda com produtos químicos baseados em moléculas sintéticas. Dessa forma, algumas ressalvas necessitam de atenção no tocante ao uso desse tipo de mistura, como a salinidade da calda com micronutrientes, toxicidade do produto químico sobre o microrganismo aplicado e o tempo de armazenamento da calda.

O uso de inseticidas, fungicidas, nematicidas e herbicidas de diferentes grupos químicos constitui prática comum no manejo das culturas de interesse econômico. O emprego em associação com entomopatógenos exige conhecimento da ação desses produtos sobre os microrganismos para determinar a compatibilidade e a viabilidade das estruturas de reprodução. Essa interação deve ser avaliada antes da recomendação de determinado produto fitossanitário químico, desempenhando importante papel em programas de manejo integrado de pragas e doenças ou MIP e MID (Batista Filho et al., 2001).

O aumento expressivo no uso de insumos agrícolas, principalmente aqueles não compatíveis, favorecem o desequilíbrio ambiental através da inviabilização dos propágulos dos microrganismos, afetando a qualidade desses agentes microbiológicos (Sosa-Gómez et al., 2010; Bueno et al., 2017). O entendimento sobre a compatibilidade dos produtos fitossanitários químicos em relação aos microrganismos possibilita a maximização o uso destes de forma aplicada e/ou conservativa, através dos intervalos de aplicações de inseticidas, fungicidas, herbicidas e fungos (Alves et al., 1998; Medeiros, 2016).

A utilização conjunta é capaz de auxiliar na redução da população e incidência das pragas e doenças, maximizando o potencial como agentes de controle, devido a presença de substâncias contidas nos produtos químicos que conseguem atuar como estressantes, favorecendo a infecção pelos microrganismos (Pessoa et al., 2020b).

Segundo Loureiro et al. (2002), ao se estabelecer uma estratégia de introdução conjunta dos microbiológicos com produtos fitossanitários químicos (controle associado), deve-se dar prioridade ao uso dos produtos que se mostrem menos deletérios, ou seja, mais seletivos ou compatíveis. Os efeitos deletérios são: inibição do crescimento vegetativo, reprodução, germinação, conidiogênese e mutação do patógeno podendo ocorrer alterações de sua composição genética, acarretando modificações na virulência (Alves et al., 1998; Alves; Lopes, 2008).

A maioria das combinações de fungos entomopatogênicos com inseticidas exerce efeito aditivo no manejo de pragas (Alves et al., 1998). Muitos foram reconhecidos como sendo compatíveis (Loureiro et al., 2002; Santos et al. 2018; Pessoa et al. 2020a) e outros incompatíveis aos entomopatógenos (Tamai et al., 2002; Loureiro et al., 2020). Apesar dos inseticidas agirem, de forma geral, em pontos específicos da fisiologia de insetos (Omoto, 2000), o modo de ação não determina que tais produtos sejam compatíveis

aos fungos entomopatogênicos (Tamai et al., 2002).

Segundo Sosa-Gómez (2005), o efeito inibitório ou não dos inseticidas depende da espécie de fungo, uma vez que esse autor verificou que o produto Karate em sua dose máxima se mostrou tóxico em relação ao fungo *Metarhizium* (Syn. *Nomuraea*) *rileyi* e compatível com *M. anisopliae*. Estudos realizados por Loureiro et al. (2002) testando diversos inseticidas sobre os fungos entomopatogênicos *B. bassiana* (isolado IBCB 66), *M. anisopliae* (isolado IBCB 121), *P. fumosoroseus* (isolado IBCB 141) e *Lecanicillium lecanii* (isolado JAB 02), verificaram que a ação dos produtos fitossanitários sobre o crescimento vegetativo variou em função da natureza química e da espécie do entomopatógeno.

Os inseticidas acefato, triclorfom, indoxacarbe, sulfoxaflor e espinetoram, testados em diferentes concentrações foram todos compatíveis com *B. bassiana* (isolado B50); entretanto diazinon foi incompatível com *B. bassiana* e *M. anisopliae* (isolado QS155) sendo observada a toxicidade do ingrediente ativo e da maior concentração testada (Khun et al., 2020).

Outra estratégia visando maximizar o efeito da mistura de inseticidas e fungos entomopatogênicos é a utilização de doses abaixo da recomendação de bula, pois a inibição ou redução do crescimento vegetativo de bioinseticidas também pode estar associada ao aumento na dose de produtos fitossanitários (Pinto et al., 2012), reforçando que a alteração da dose recomendada dos produtos químicos no preparo das misturas de caldas com bioinseticidas a base de Bt aumenta as chances de incompatibilidade (Santos et al., 2021). De acordo com vários autores a utilização de doses subletais de inseticidas neonicotinoides (especialmente imidacloprid) pode suprimir a imunidade dos insetos, aumentando a eficiência de fungos entomopatogênicos (Boucias et al., 1996; Quintela; McCoy, 1998; Furlong; Groden, 2001; Purwar; Sachan, 2006).

Os efeitos dos inseticidas sintéticos sobre bioinseticidas a base de Bt também são variáveis. Vários trabalhos na literatura demonstram essa compatibilidade (Pinto et al., 2012; Agostini et al., 2014; Veiga, 2014; Abdullah, 2019). De acordo com Veiga (2014), o Bt pode utilizar o inseticida como fonte de nutrientes para o seu crescimento. Tal compatibilidade abre a possibilidade do uso em mistura para o manejo de pragas como as lagartas *Chrysodeixys includens* e *Helicoverpa armigera* (Felland; Pitre, 1990; Karim et al., 1999; Khalique; Ahmed, 2001). Casos de incompatibilidade também são verificados, observando redução no crescimento bacteriano, nas unidades formadoras de colônia (UFC), proporcionado pelos inseticidas thiametoxan, malation e fipronil (Pinto et al., 2012).

Dentre os produtos fitossanitários, os fungicidas são os que causam maiores efeitos negativos sobre os entomopatógenos (Jaros-Su et al., 1999). Independentemente do tipo de formulação são sempre tóxicos para os fungos entomopatógenos (Figura 3), sendo normalmente relacionados como não seletivos, em testes realizados *in vitro* (Rossi-Zalaf et al., 2008).

Os fungicidas a base de tiofanato metílico, paratiom metílico, tebuconazol e tetraconazol inibiram o crescimento de *Isaria fumosorosea* (Syn. *Paecilomyces fumosoroseus*). Mancozebe e metalaxil causaram os efeitos mais negativos para todos os fungos *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *Lecanicillium lecanii* (Syn. *Verticillium lecanii*) e *I. fumosorosea* (Loureiro et al., 2002). Entretanto, a inibição do crescimento micelial não é necessariamente um indicador da redução na esporulação ou da viabilidade conidial e vice-versa (Zimmermann, 1975).

A grande toxicidade de moléculas de fungicidas pertencentes ao grupo dos fungicidas protetores, se caracteriza por apresentarem atividade em múltiplos sítios de ação, afetando grande número de processos vitais de fungos fitopatogênicos (Guini; Kimati, 2000). Uma exceção neste grupo de fungicidas foi o enxofre (Kumulus® DF), que se mostrou compatível a *B. bassiana* (Tamai et al., 2002). A seletividade do enxofre é também conhecida para outras espécies de fungos entomopatogênicos como *M. anisopliae* e *Lecanicillium lecanii* (Alves et al., 2000).

Estudando os efeitos dos fungicidas Fox® Xpro, Sphere® Max e Vessarya®, utilizados na cultura da soja para o manejo da ferrugem asiática *Phakopsora pachyrhizi*, Barbosa Jr. (2020) verificou a toxicidade desses produtos ao fungo entomopatogênico *Metarhizium rileyi* (UFMS 03), em testes “in vitro”. Esses produtos pertencem aos grupos químicos das estrobilurinas e triazóis. Para os produtos Orkestra® e Elatus® (apresentam uma estrobilurina associada a uma carboxamida), esse autor verificou efeitos diferentes, sendo os produtos classificados como moderadamente tóxico e compatível, respectivamente. Verifica-se a presença da mesma carboxamida (benzovindiflupir) para os fungicidas Vessarya® e Elatus® e apenas o Vessarya® mostrou-se incompatível, o que pode denotar que a toxicidade ao microrganismo provem da estrobilurina presente em Vessarya®. Entretanto, essas diferentes respostas apresentadas por esses produtos podem estar relacionadas à formulação dos mesmos, pois além do ingrediente ativo eles também apresentam substâncias que potencializam sua ação, as quais podem ser tóxicos aos microrganismos (Conceschi, 2017).

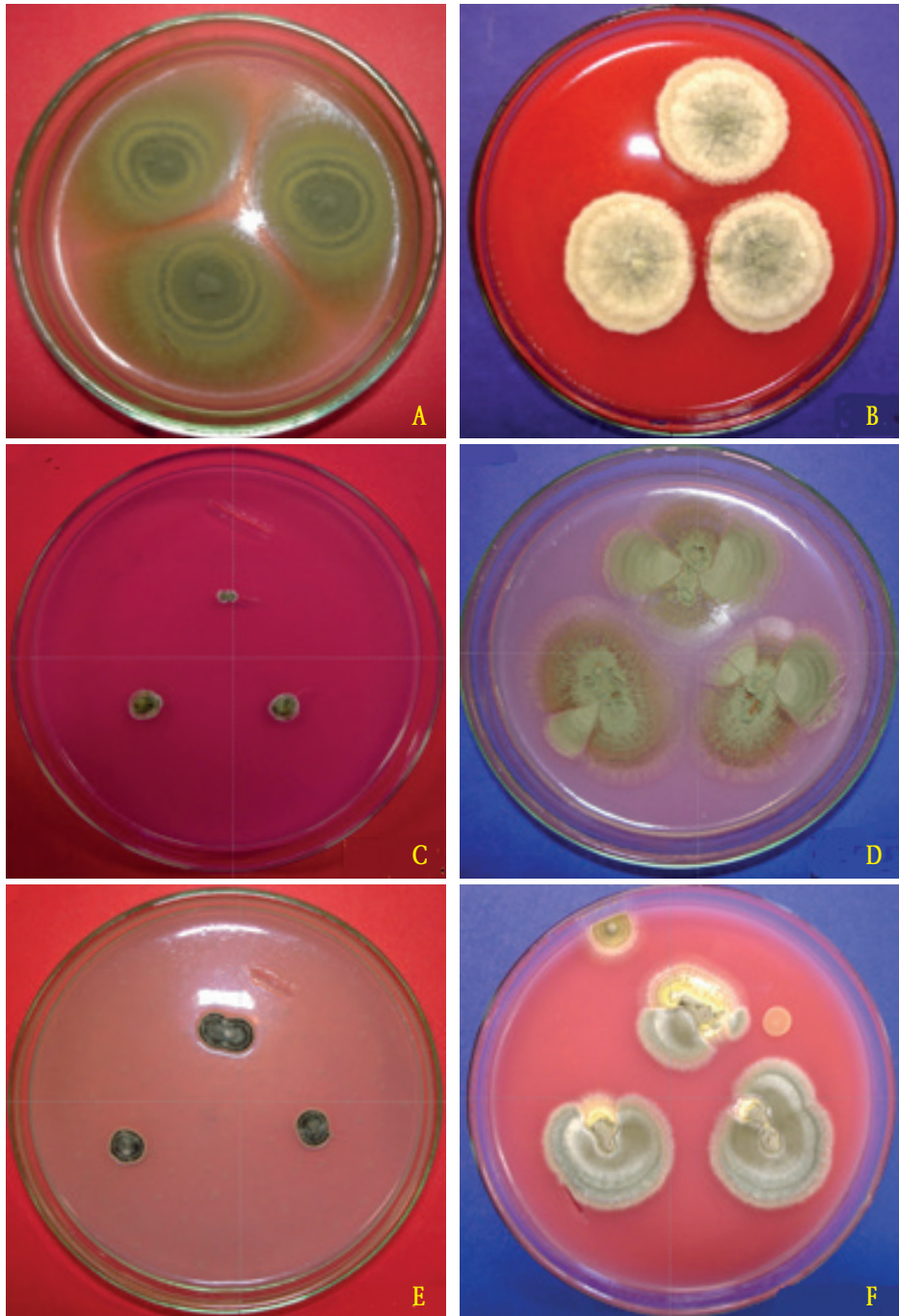
Estudos de compatibilidade de fungicidas aos fungos entomopatogênicos evidenciaram efeitos negativos do grupo químico estrobilurina + triazol através da inibição do crescimento vegetativo de 3 linhagens de *Metarhizium* spp. (Damin et al., 2011). Efeitos tóxicos e incompatibilidade de fungicidas do grupo triazol são relatados aos fungos *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *L. lecanii* (Reddy et al., 2018).

Piraclostrobina, oxicloreto de cobre e tebuconazol (estrobilurina, multissítio e triazol, respectivamente) foram os produtos que reduziram totalmente a viabilidade do isolado IBCB 276 de *B. bassiana* (Von Nowakowski, 2019) e alta toxicidade com ciproconazol (triazol) (Loureiro et al., 2002; Tamai et al., 2002). Piraclostrobina reduziu o índice biológico para o fungo *M. anisopliae* isolado QS155 (Khun et al., 2020), verificando-se efeito fungistático além da inibição da germinação de conídios (Bruck, 2009; Roberti et al., 2017).

Os fungicidas também podem impactar o crescimento de *I. fumosorosea* e, portanto, deve ser evitado em contato direto (mistura em tanque). Além disso, o fungo não deve ser aplicado no mesmo dia que com fungicidas à base de cobre (Avery et al., 2013).

Estudos com os fungicidas Arouch Prima®, Nativo®, Priori®, Priori Xtra®, Fox® e Opera® (estrobilurinas + triazol e/ou carboxamida), recomendados para o controle da ferrugem da soja, nas doses mínima e máxima, sobre o fungo *Metarhizium rileyi* (UFMS 02), reduziram significativamente o crescimento vegetativo, a viabilidade dos conídios e o número de unidades formadoras de colônia do fungo, sendo todos considerados tóxicos e incompatíveis (Pessoa; Loureiro, 2013).

Os herbicidas butafenacil, 2,4-D, metribuzim, s-metolaclo e trifloxissulfuro de sódio reduziram significativamente tanto o crescimento vegetativo como a reprodução do fungo, mostrando-se inviáveis para a sobrevivência do *M. anisopliae*.



Fotos: Elisângela de Souza Loureiro.

Figura 3. Efeito dos produtos fitossanitários no desenvolvimento de *Metarhizium anisopliae*. A - crescimento normal na ausência de produtos; B, D, F - alteração no crescimento e interferência na produção de conídios na presença de produtos; C, E - inibição do crescimento vegetativo na presença de produtos.

Almeida et al. (2010) e Botelho; Monteiro (2011) estudando a compatibilidade de Glifosato® (nas doses máxima e mínima) sobre *M. anisopliae* (IBCB 348 e E9), verificaram que ambas as doses afetaram de forma deletéria a germinação dos conídios do entomopatógeno.

Estudos conduzidos por Pessoa et al. (2020a) concluíram que os herbicidas Basagran® em dose mínima e Flex® não afetaram o crescimento vegetativo do fungo *M. rileyi*. O herbicida Glifosato® (doses mínima e máxima) reduziu a germinação dos conídios de *M. rileyi* (UFMS 03).

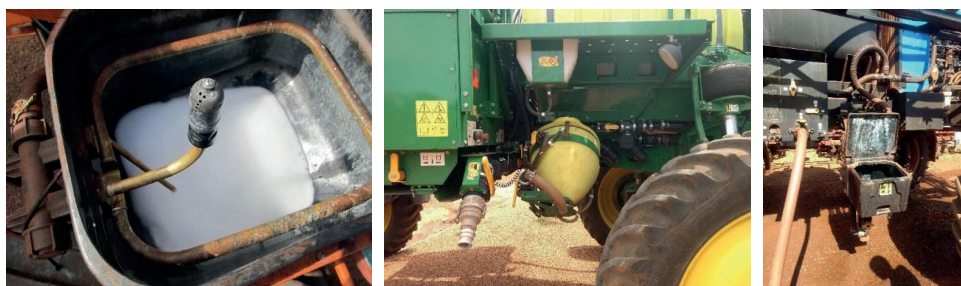
Dinâmica da calda de pulverização

Os produtos em combinação com o solvente, em geral a água, passam por diferentes níveis de turbilhonamento e pressão. Esse processo é iniciado no preparo de calda e do fluxo para o tanque de pulverização que podem ser turbulentos ou não, conforme o sistema de preparo de calda. Após o preparo e chegada ao tanque de pulverização aumenta-se a solubilidade e inicia-se um novo processo de agitação hidráulica ou mecânica pelos sistemas de agitação presentes no pulverizador. Após este processo inicia-se a pressão pelos sistemas de filtragens que começa pela sucção da bomba de pulverização, filtros de linha e dos diferentes mecanismos de fragmentação da calda em gotas de pulverização, seja por pontas hidráulicas com diferentes configurações de pressurização em suas galerias internas (simples, pré-orifício e indução de ar ou combinação de pré-orifício e indução de ar) e também por sistemas de fragmentação de gotas por atomização com galerias internas (cubo e difusor) e externas (telas ou discos). Toda esta dinâmica da calda pelos componentes mecânicos do circuito hidráulico e os seus efeitos ainda são poucos conhecidos para os produtos biológicos.

Preparo de calda

Os três sistemas operacionais comumente utilizados para preparo de calda e adição no tanque de pulverização são denominados de incorporadores de calda, tanques de pré-mistura e calda pronta e concentrada.

Os incorporadores são componentes que vem de fábrica dos pulverizadores para facilitar a operação de preparo de calda, evitar a subida com produtos até o bocal do tanque, reduzir a contaminação do preparador e possibilitar a tríplice lavagem das embalagens de forma segura (Figura 4). O uso deste componente tem reduzido devido as vantagens operacionais oferecidas aos sistemas de pré-mistura e calda pronta.



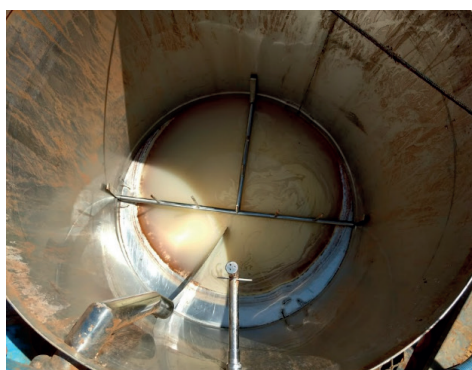
Fotos: Rone Batista de Oliveira.

Figura 4. Modelos de incorporadores de calda que vem de fábrica nos pulverizadores.

O pré-misturador é um sistema de preparo de calda no qual os produtos são diluídos em água, a maioria contém esguicho e injeção interna de água nas embalagens para realização de tríplice lavagem e bombeamento imediato para o tanque de pulverização. São fabricados em polietileno ou aço inox (Figuras 5 e 6). É recomendado que tenham algum tipo de sistema de agitação de caldas, neste processo é necessário também muita atenção na quantidade de água, porque preparar com baixos volumes pode saturar o sistema e comprometer a solubilidade. Tem sido objeto de muitas melhorias e inovações e o seu uso tem sido crescente.



Fotos: Rone Batista de Oliveira.



Fotos: Rone Batista de Oliveira.

Figura 6. Sistema de preparo de caldas com pré-misturador em inox e com sistema de agitação.

No sistema a calda pronta ou calda preparada em local específico e separado do pulverizador e poderá ser armazenada em caminhão transportador de calda e somente transferida para o tanque de pulverização no momento certo da necessidade e com a principal vantagem de reduzir o tempo gasto de deslocamento do pulverizador para abastecimento. É obrigatório que o reservatório de armazenamento de calda tenha sistema de agitação para reduzir os problemas físicos de incompatibilidades de produtos.

O sistema de calda concentrada também denominado de “usinagem de calda” consiste em um espaço específico para o preparo de caldas com alta concentração e que será diluída no tanque do pulverizador. O sistema requer um caminhão transportador de calda concentrada e outro para transporte de água. As vantagens deste sistema, segundo o usuário, é o maior controle e segurança das operações

e operacionalidade no campo e pode permitir conhecer as incompatibilidades antes de adicionar ao tanque do pulverizador. Do ponto de vista físico-químico, pode-se aumentar a probabilidade de risco de incompatibilidade em função da baixa quantidade de água para solubilidade dos produtos.

Sistemas de agitação

Embora as tecnologias de aplicação utilizadas com os produtos biológicos sejam as mesmas utilizadas para qualquer outro produto líquido, existem algumas diferenças importantes para o sucesso destas aplicações. Muitas vezes, os produtos químicos são aplicados como soluções homogêneas de dois ou mais componentes, já, os produtos biológicos são na grande maioria das vezes formulados como suspensões de corpos microbianos em um veículo líquido menos denso (Gouli et al., 2011). Portanto, é fundamental a agitação durante o preparo da calda e a sua manutenção durante o trajeto de reabastecimento e durante a aplicação em campo. Ainda, quando esta suspensão é pulverizada, os sólidos dos produtos biológicos em suspensão têm uma energia cinética muito maior do que a fase líquida, podendo resultar na separação desses propágulos da gota de pulverização. Como resultado, mesmo que a calda atinja o alvo na planta, uma parte dos sólidos em suspensão é perdida no ar. Esse fato pode ser especialmente problemático quando do uso da técnica de ultra-baixo volume. Desta forma, mais experimentos em campo neste seguimento precisam ser conduzidos para o ajuste fino da técnica de aplicação.

O nível de agitação da mistura em tanque depende do tipo de pulverizador. Os pulverizadores costais apresentam baixa agitação e os demais pulverizadores caracterizados como acoplados, de arrasto e autopropelidos apresentam sistemas de agitação hidráulica e/ou mecânica.

A agitação hidráulica é realizada por meio da circulação da calda que retorna para o tanque, comandada por um regulador pressão e, portanto, a agitação é dependente do volume de calda pulverizado nas pontas e do que sobrar para retornar ao tanque.

Em geral a mangueira do retorno está na parte superior do tanque e com saída na superfície da calda. Existem também sistemas pulverizadores acoplados com opções de instalação de agitador mecânico, para complementar e melhorar a agitação por turbilhonamento que pode ser acionado por bomba e motor hidráulico. Outro recurso é a agitação hidráulica com adição de bicos acessórios, que potencializam a agitação por meio do princípio de um tubo de venturi, permitindo que bombas pequenas movimentem grandes volumes de líquido com o intuito de proporcionar maior velocidade do fluxo e agitação da calda e devem ser instalados no fundo do tanque.

A agitação mecânica é realizada por meio de um conjunto de hélices acionado pelo sistema hidráulico e/ou motor elétrico, também auxiliada por sistemas de quebra-ondas no tanque. O dimensionamento e a combinação correta de agitadores hidráulicos e mecânicos podem contribuir para promover melhor homogeneização da calda de pulverização ou reduzir o risco de instabilidade da calda.

A ausência de agitação ou turbilhonamento da água no momento da adição dos produtos pode acarretar a formação de sobrenadantes que potencializam a desuniformidade ou a sedimentação direta dos produtos para o fundo do tanque (Figura 7), com a possibilidade de serem succionados pela bomba.

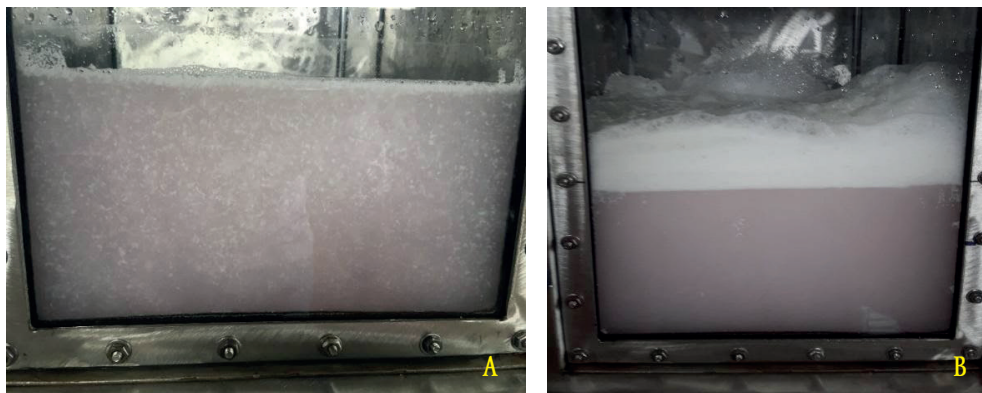


Figura 7. Caldas de pulverização sem agitação (A) e com agitação (B).

Fonte: Oliveira et al., 2021.

A agitação mecânica vem como novo recurso para promover o turbilhonamento necessário para homogeneizar a calda de pulverização, porém também tem aumentado a formação de espumas que podem atuar na retenção do ingrediente ativo, na dificuldade de completar o tanque, extravasamento de calda do tanque e na alteração dos valores de leitura do fluxômetro.

Interação da calda com os componentes do pulverizador

Existem muitos fatores que podem exercer influência direta nas variáveis que determinam a interação dos produtos com os componentes do circuito hidráulico do pulverizador. Entre eles, destaca-se as variações da qualidade do produto biológico, pressão de trabalho do sistema, o sistema de filtragem hidráulica e a complexidade das partes e regiões presentes nos pulverizadores que poderão acumular produtos químicos e inviabilizar a atividade biológica dos produtos.

A presença de partículas na calda devido ao processo de fabricação ou alterações com o tempo podem comprometer totalmente a passagem da calda que é iniciado pela bomba de pulverização até a pressurização do volume total pelo orifício da ponta de pulverização.

Quanto ao sistema de filtragem dos pulverizadores com os produtos biológicos é ainda mais necessário seguir uma sequência de abertura das malhas dos filtros que vão desde a sucção promovida pela bomba com malhas com dimensões 40 mesh que contém aberturas maiores, passando pelos filtros de linha da barra de pulverização com dimensões de 60 mesh e pelos filtros das pontas que são comumente utilizados filtros de malha 80 ou 100 mesh. Em termos de filtros, observa-se muitos entupimentos e comprometimento das funcionalidades das pontas devido a retirada de seus filtros, o que retrata um procedimento comumente realizado sem evidências técnicas dos benefícios desta decisão. Isto deve vir, por meio de análises operacionais técnicas e econômicas. A ausência de filtros nas pontas acarreta o entupimento, falhas de deposição de produto, redução do rendimento operacional por paradas e significa comprometer a funcionalidade de um componente que custa de 5 a 10 vezes mais que o filtro de pontas que previne estes problemas e que contribui para que a ponta exerça com

eficiência as suas principais funcionalidades que são: determinar a vazão, o tamanho e uniformidade das gotas, o formato e direção do jato pulverizado e o padrão de distribuição das gotas no alvo.

A exposição de alguns produtos biológicos a tensões hidrodinâmicas elevadas durante a aplicação em campo pode causar danos permanentes aos agentes biologicamente ativos e até a redução da eficiência deste produto. Foi constatado que a pressão de pulverização e a vazão afetam significativamente a atividade dos esporos dos produtos biológicos, uma vez que um maior volume de calda depositado sobre a superfície favorece a ação do esporo por mais tempo na superfície foliar, enquanto a menor pressão no circuito hidráulico causa menor dano à atividade dos produtos biológicos (Fife et al., 2002; Ru et al., 2020).

Mais estudos são necessários nesse seguimento relacionando pressão e atividade biológica do produto fitossanitário. Todavia, até o ponto onde se tem relatos desse tipo de estudo na atualidade, a atividade biológica dos produtos biológicos começa a ser afetada quando a pressão é superior a 12 Bar (174 PSI ou 1,2 MPa). Fife et al. (2002) recomendam uma pressão máxima no circuito hidráulico de 13,8 Bar (200 PSI ou 1,4 MPa) quando da aplicação de nematoides entomopatogênicos (*Heterorhabditis megidis*), para que a viabilidade do produto biológico não seja afetada estatisticamente. De tal modo, nas pressões de trabalho do circuito hidráulico de pulverização, incluindo as aplicações na cultura da soja, não é comum ultrapassar 4 Bar (58 PSI ou 0,4 MPa) quando se utiliza pontas do tipo leque, e mesmo que fossem utilizadas pontas do tipo cone, a pressão mais usual não ultrapassa 8 Bar (116 PSI ou 0,8 MPa). Portanto, a atenção do produtor deve ser dada quando da aplicação com elevadas pressões não usuais no circuito hidráulico de pulverização.

Fife et al. (2005) avaliaram a viabilidade relativa de nematoides entomopatogênicos após a aplicação dos tratamentos pela variação da pressão hidráulica e tipo de ponta (leque uso ampliado e cone vazio) e concluíram que a viabilidade dos agentes biológicos foi muito mais relacionada com a variação da pressão do circuito hidráulico do que com a variação do tipo de ponta especificamente. Os autores apresentaram que em uma mesma pressão de trabalho, a viabilidade do agente biológico foi a mesma. Entretanto, várias novas pontas foram desenvolvidas recentemente, e assim, novos estudos são necessários para a avaliação da atividade biológica dos agentes aplicados por pontas do tipo pré-orifício e com indução de ar, por exemplo.

Gan-Mor e Matthews (2003) reportam que as aplicações de produtos biológicos utilizando turbo atomizadores podem apresentar alguma diferença no controle muito mais pela modificação da taxa de aplicação, podendo tornar a calda muito diluída, pois o produto estará em suspensão, do que pela presença da técnica da cortina de ar propriamente dita. Os autores ainda reportam que o uso da técnica de eletrificação das gotas pode sim trazer benefícios no aumento da deposição, todavia, deve-se atentar para o tamanho da gota gerada, compatível com a técnica eletrostática.

Na maioria das propriedades o pulverizador é dimensionado para trabalhar o ano todo visando atender as diferentes culturas e exigências de manejo fitossanitário em função do ciclo fenológico da cultura e as especificidades das culturas de inverno e verão. Somado a isso, adiciona-se as diferentes fases que se utilizam produtos biológicos e químicos, assim as práticas e procedimentos de limpeza e/ou descontaminação do pulverizador ganhou evidência. O que não era praticado, atualmente tornou-se preocupação, necessidade e desafio cultural para um novo planejamento das operações de pulverização,

levando-se em conta a limpeza do pulverizador.

Mesmo já iniciado em nível de campo com treinamentos e conscientização, ainda há muita pesquisa a realizar para desenvolvimento de procedimentos operacionais mais eficientes auxiliada pela indústria química na fabricação de agentes de limpeza ou inativação de alguns ativos específicos que podem inviabilizar a atividade biológica da calda contendo o produto biológico ou causar fitotoxicidade na cultura em função da seletividade do produto.

Funcionalidades benéficas dos adjuvantes para os biológicos

A adição dos adjuvantes às caldas, tendo a água como principal diluente, se faz necessário em função da natureza hidrofóbica da superfície dos propágulos infectivos de microrganismos (Boucias et al., 1988). A adição desses produtos permite a suspensibilidade e dispersão em veículo apropriado, mas também para aumentar a deposição, espalhamento, molhamento, adesão, retenção e eficiência sobre o alvo para qual é dirigido (Costa et al., 2003). Como a adição dos adjuvantes são fundamentais, os estudos sobre a compatibilidade de bioinseticidas com adjuvantes, são escassos, principalmente sobre o efeito no crescimento vegetativo, produção e viabilidade de conídios ou esporos, persistência e eficiência de controle.

Assim, os produtos biológicos quando aplicados devem apresentar boa cobertura sobre o alvo, para garantir eficácia de controle e atenção deve ser tomada a respeito do tamanho de gotas escolhida na pulverização, assim como a distribuição do espectro de gotas sobre o alvo. Muitas vezes, em função das particularidades das aplicações, também pode ser necessária a utilização de adjuvantes nas misturas, adicionando benefícios físico-químicos à calda, tornando o controle do alvo mais eficiente. Assim, o uso de adjuvantes surfactantes na aplicação de produtos biológicos podem trazer benefícios, no sentido de aumentar a superfície de área molhada pela calda sobre as folhas da cultura da soja, e, conseqüentemente, aumentar a eficácia do controle, pois seu comportamento é de um produto de contato.

Almeida et al. (2007), verificaram para o adjuvante AgRho DEP-775, eficácia de 73,8% aos 90 dias após a aplicação de *M. anisopliae* sobre *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae).

Alguns óleos podem induzir estresses fisiológicos aos insetos que os predisõem à infecção com microrganismos, por outro lado óleos a base de petróleo podem ser tóxicos (Cuthbertson et al., 2008; 2012).

Os adjuvantes Assist, Attach, Agnique CSO 40-B, Agnique ESO 81-B Dytrol, Iharol, Joint Oil, Max Óleo, Natur Óleo, Nimbus e Veget Oil são compatíveis com o fungo entomopatogênico *B. bassiana*. Para *M. anisopliae* somente são compatíveis os produtos Attach, Agnique CSO 40-B, Dash, Dytrol, Agnique ESO 81-B, Natur Óleo e Veget Oil. Para *Isaria* sp. (Syn. *Paecilomyces* sp.) os produtos OPPA, Nimbus e Assist podem ser utilizados em misturas de tanque. O isolado CG 432 de *B. bassiana* foi o que apresentou a viabilidade menos afetada pelos óleos testados e o isolado UNI 31 de *Isaria* sp. mostrou-se mais suscetível aos óleos (Silva et al., 2006).

Os mecanismos propostos para atividade sinérgica de óleos com fungos entomopatogênicos incluem adesividade aumentada de conídios para a cutícula lipofílica do inseto, rompimento (solubilização) das ceras cuticulares levando a uma melhora deposição (por exemplo, carregando conídios para membranas

intersegmentais finas) e secundária melhorada aquisição de inóculo fúngico de vegetação ou outras superfícies pulverizadas (Boucias; Pendland, 1991; Ibrahim et al., 1991; Inglis et al., 2002).

Portanto, ainda existe pouca informação da interação dos adjuvantes com os produtos biológicos nas funcionalidades desejáveis nos produtos químicos, por exemplo, aos efeitos das suspensões na tensão superficial, no *rainfastness*, na formação de gotas, na capacidade de espalhamento, no tempo de evaporação e, principalmente na cobertura e deposição das gotas de pulverização nos principais alvos da cultura da soja.

Cuidados na escolha da técnica de aplicação

A qualidade da pulverização de qualquer produto, inclusive os biológicos, depende do espectro de gotas, do volume de aplicação (L/ha), dos ajustes operacionais do pulverizador e das condições meteorológicas no momento da aplicação, entre outros fatores. O espectro de gotas é o resultado da interação entre a ponta de pulverização, a pressão de trabalho e a calda utilizada. Diversos autores observaram que o aumento de pressão ocasiona na redução do espectro de gotas (Creech et al., 2015; Ferguson et al., 2016; Maciel et al., 2018; Kooij et al., 2018). Isto é devido ao aumento de energia cinética presente no líquido ao sair pelo orifício final da ponta de pulverização. Esse incremento de energia permite que haja maior fragmentação da solução de pulverização.

O tamanho de gota pulverizado está associado diretamente com a cobertura e a deposição e, conseqüentemente, com resultado da ação biológica do produto no alvo. Entretanto, o tamanho das gotas também interfere no risco de perdas por deriva. Em teoria, as classes de gotas finas e muito finas proporcionam maior cobertura dos alvos, mas são responsáveis também pelo maior risco de perdas por deriva. As gotas da classe muito fina são muito sensíveis ao carregamento pelo vento, principalmente por apresentarem elevado percentual do volume aplicado com gotas menores que 100 µm.

Usando como exemplo os inseticidas químicos, os aplicadores normalmente dão preferência pelo uso das gotas mais finas sempre que há uma arquitetura mais complexa dos alvos (uma planta bastante enfolhada ou pragas que se posicionam nas partes mais difíceis de alcançar). Entretanto, estas gotas mais finas nem sempre serão ideais para a aplicação de produtos biológicos. Ru et al. (2020) avaliaram a deposição da calda em túnel de vento pela aplicação de *Bacillus thuringiensis* e de *Beauveria bassiana* via bicos rotativos. Os autores observaram uma sensível redução da taxa de retenção de propágulos em placa de Petri à medida em que houve diminuição do tamanho de gotas médias para finas (de 300 para 150 µm, respectivamente). Os autores sugerem que o tamanho de gota na aplicação desses produtos biológicos não seja inferior a 200 µm. Por outro lado, em experimento variando tipo de ponta (cone vazio e leque), pressão de pulverização (20 e 40 PSI) e altura da barra de pulverização (0,25 e 0,50 m), Gouli et al. (2011) observaram resultados similares às técnicas convencionais de aplicação de produtos químicos quando avaliaram a deposição de *Beauveria bassiana* em plantas de crisântemo.

No controle biológico é necessário que o inseto-alvo esteja em contato com o microrganismo ou suas estruturas (fungo, bactéria ou vírus), para o seu controle seja efetivo. Dessa forma, vale enfatizar a necessidade de escolha do volume de calda e do espectro de gotas que promovam cobertura adequada dos alvos, preservando ainda as necessidades práticas do uso dos agentes biológicos. Além

da quantidade de gotas e de sua distribuição, deve-se considerar também o comportamento da praga quanto à região predominante de localização no dossel das plantas. Destaca-se, ainda, a necessidade da utilização de pontas com classes de gotas que não comprometa a qualidade (cobertura e depósito), e ao mesmo tempo não proporcione um alto risco de perdas por deriva.

Uma das maiores dificuldades na inserção da tecnologia de aplicação de produtos biológicos, dentro da rotina de trabalho em culturas anuais, é a aparente dissociação entre as necessidades básicas dos biológicos e as tendências operacionais da tecnologia de aplicação de produtos químicos. Sem criar juízo de valor quanto ao mérito de cada uma das tecnologias de aplicação, no caso dos produtos químicos observa-se um avanço crescente das misturas complexas em tanque e dos volumes de calda cada vez menores, buscando níveis elevados de rendimento operacional. Por outro lado, no caso dos produtos biológicos, existem ainda muitos questionamentos e restrições quanto as misturas, e a aplicação com volume de calda reduzido pode ser um problema na obtenção de desempenho no controle.

Enquanto de um lado as escolhas têm sido de pontas que geram classes de gotas finas a médias nas aplicações de produtos biológicos, em função da necessidade de maior cobertura do alvo, há ainda a problemática da deriva que pode ocorrer com maior frequência, quando da escolha de gotas com tamanhos próximos as gotas finas ou muito finas. As perdas por deriva devem ser minimizadas para uma boa atuação do produto biológico, e, portanto, recomenda-se a escolha de pontas que tragam maior homogeneidade do tamanho de gotas determinada pelos valores da amplitude relativa e baixa deriva determinada pela classe de gotas e percentual do volume com gotas menores que 100 μm .

Dentre as técnicas utilizadas para a redução da deriva primária (caracterizada pela movimentação das gotas geradas para fora da área aplicada) o uso de pontas de pulverização com técnicas de redução de deriva é considerado o mais efetivo. Estas pontas são caracterizadas por possuir entradas de ar, câmara de mistura e pré-orifício. Tais componentes permitem que haja a mistura do ar com a calda de pulverização devido ao fenômeno conhecido por efeito venturi, fazendo com que as gotas saiam pelo orifício final com uma menor pressão, reduzindo a fragmentação dessas (Butts et al., 2018).

No caso de aplicações isoladas de produtos biológicos deve-se pensar em técnicas de redução de deriva mais sob a ótica da endoderiva (dentro da área aplicada e que não atinge o alvo) e da eficiência de chegada da gota ao alvo do que da exoderiva (fora da área aplicada em pequenas e longas distâncias), uma vez que o produto biológico traz menor risco de contaminação as áreas externas à aplicação.

As práticas de pulverização são altamente sensíveis as variações das condições meteorológicas (Silva et al., 2018). As condições meteorológicas consideradas favoráveis para a realização das pulverizações são amplamente citadas na literatura, sendo caracterizadas por temperaturas entre 15 °C a 30 °C, umidade relativa do ar maior que 55% e velocidade do vento variando de 2 a 10 km h⁻¹, (Ruedell, 2002; Antuniassi, 2005; Minguela; Cunha, 2010).

Condições meteorológicas inadequadas, ocorrência de precipitação e problemas nos equipamentos podem impedir a realização da pulverização, sendo necessário armazenar as caldas até que as condições se tornem ideais (Stewart et al., 2009; Eure et al., 2011). O tempo máximo de armazenamento de caldas contendo agentes biológicos no tanque de pulverização e/ou no tanque de pré-misturas ainda gera

dúvidas na eficiência. Portanto, são necessários estudos para a tomada de decisão de armazená-las por um determinado período ou utilizá-las mesmo em condições inadequadas.

Condições meteorológicas inadequadas (temperatura, umidade e precipitação, entre outras) podem afetar os produtos biológicos, fazendo com que o agente se degrade rapidamente e não expresse todo o seu potencial de controle sobre os alvos de interesse (Pessoa et al., 2020a).

Considerações Finais

A disponibilização de produtos com estabilidade das formulações e com adequada solubilidade em água é fundamental para a qualidade das aplicações de produtos biológicos. Os tipos predominantes de formulações dos produtos biológicos atuais (WP e SC) exigem atenção na agitação e nos sistemas de filtragem do pulverizador, de forma a evitar que as possíveis incompatibilidades físicas e químicas possam comprometer a qualidade do tratamento. Há carência de pesquisas sobre a influência das misturas dos químicos aos biológicos, a interação das caldas com os diferentes modelos de pontas, a interferência da pressão de pulverização, o efeito do volume de calda e o impacto da formação de gotas nos parâmetros de cobertura e deposição de produtos biológicos na cultura da soja.

Existe uma demanda por tecnologias de aplicação e profissionais aptos a recomendar técnicas de aplicação que atendam as especificidades deste cenário dos produtos biológicos. Somente com a integração do desenvolvimento dos produtos biológicos com a tecnologia de aplicação será possível gerar informações seguras, trazendo soluções que evitem a utilização de técnicas de aplicação inadequadas, que somente por comodidade acabam sendo as mesmas técnicas utilizadas para os produtos químicos.

Referências

- ABDULLAH, R. R. H. The side effect of commonly used chemical pesticides on entomopathogenic *Beauveria bassiana* and *Bacillus thuringiensis* as biopesticides. *Egyptian Journal of Plant Protection and Research Institute*, v. 2, p. 1-8, 2019.
- AGOSTINI, L. T.; DUARTE, R. T.; VOLPE, H. X. L.; AGOSTINI, T. T.; CARVALHO, G.; ABRAHÃO, Y. P.; PLANHNK, R. A. Compatibility among insecticides, acaricides, and *Bacillus thuringiensis* used to control *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) in cotton fields. *African Journal of Agricultural*, v. 9, n. 11, p. 941-949, 2014.
- ALMEIDA, A. M. B.; BATISTA FILHO, A.; COSTA, E. A. D. Efeito de adjuvantes em associação com Thiamethoxam 250 WG e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin no controle de cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854) (Hemiptera; Cercopidae). *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 74, n. 2, p. 135-140, 2007.
- ALMEIDA, A. M. B.; BATISTA FILHO, A.; TAKADA, H. M.; LEITE, L. G.; ZAPPELINI, L. O.; WENZEL, I. M.; ALMEIDA, J. E. M.; CARVALHO, A. G. Susceptibilidade de *Rhynophorus palmarum* à ação de *Metarhizium anisopliae* e compatibilidade do entomopatógeno com agrotóxicos utilizados na cultura da banana. *Arquivo Instituto Biológico*, v. 77, n. 4, p. 661-668, 2010.
- ALVES, S. B.; LOPES, R. B. *Controle Microbiano de Pragas na América Latina: Avanços e Desafios*. Piracicaba: FEALQ, 2008.
- ALVES, S. B.; LOPES, R. B.; TAMAI, M. A.; MOINOJÚNIOR, A.; ALVES, L. F. A. Compatibilidade de produtos fitossanitários com entomopatógenos em citros. *Laranja*, v. 21, n. 2, p. 295-306, 2000.
- ALVES, S. B.; MOINO JÚNIOR, A.; ALMEIDA, J. E. M. Produtos fitossanitários e entomopatógenos. In: ALVES, S. B. (Ed.). *Controle microbiano de insetos*. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 217-238.
- ANTUNIASSI, U. R. Qualidade em tecnologia de aplicação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 5., 2005, Salvador. *Anais...* Salvador, BA: Fundeagro, 2005. p. 1-6.

- AVERY, P. B.; PICK, D. A.; ARISTIZÁBAL, L. F.; KERRIGAN, J.; POWELL, C. A.; ROGERS, M. E.; ARTHURS, S.P. Compatibility of *Isaria fumosorosea* (Hypocreales: Cordycipitaceae) Blastospores with Agricultural Chemicals Used for Management of the Asian Citrus Psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). *Insects*, v. 4, p. 694-711, 2013.
- BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J. E. M.; LAMAS, C. Effect of thiamethoxam on entomopathogenic microorganisms. *Neotropical Entomology*, v. 30, n. 3, p. 437-447, 2001.
- BOTELHO, A. A. A.; MONTEIRO, A. C. Sensibilidade de fungos entomopatogênicos a agroquímicos usados no manejo da cana-de-açúcar. *Bragantia*, v. 70, n. 2, p. 361-369, 2011.
- BOUCIAS, D. G.; PENDLAND, J. C. Attachment of mycopathogens to cuticle: The initial event of mycosis in arthropod hosts. In: COLE, G. T.; HOCH, H. C. (Ed.). *The Fungal Spore and Disease Initiation in Plants and Animals*. New York: Plenum Press, 1991. p. 101-128.
- BOUCIAS, D. G.; PENDLAND, J. C.; LATGE, J. P. Nonspecific Factors Involved in Attachment of Entomopathogenic Deuteromycetes to Host Insect Cuticle. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 54, p. 1795-1805, 1988.
- BOUCIAS, D. G.; STOKES, C.; STOREY, G.; PENDLAND, J. C. The effects of imidacloprid on the termite *Reticulitermes flavipes* and its interaction with the mycopathogen *Beauveria bassiana*. *Pflanzenschutz-Nachr.* v. 49, p. 103-144, 1996.
- BUENO, A. F.; CARVALHO, G. A.; SANTOS, A. C.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; SILVA, D. M. Pesticide selectivity to natural enemies: challenges and constraints for research and field recommendation. *Ciência Rural*, v. 47, n. 6, p. 1-10, 2017.
- BRUCK, D. J. Impact of fungicides on *Metarhizium anisopliae* in the rhizosphere, bulk soil and in vitro. *Biocontrol*, v. 54, p. 597-606, 2009.
- BUTTS, T.; MORAES, J.; KRUGER, G. R. Impact of plugged venturi nozzle air-inclusion ports on droplet-size distribution. ASTM International, 08 nov. 2018. Disponível em: <https://www.astm.org/stp161020170199.html>. Acesso em: 02 mar. 2022.
- CONCESCHI, M. R. **Parâmetros a serem considerados nas pulverizações do fungo *Isaria fumosorosea* para o manejo de *Diaphorina citri***. 2017. 133 f. Tese (Doutorado em Ciências - Entomologia) - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - ESALQ, Piracicaba.
- COSTA, E. A. D.; ALMEIDA, J. E. M.; LOUREIRO, E. S.; SANO, A. H. Compatibilidade de adjuvantes no desenvolvimento "in vitro" dos fungos entomopatogênicos *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin. *STAB*, v. 22, p. 38-40, 2003.
- CROPLIFE BRASIL. **Cresce a adoção de produtos biológicos pelos agricultores brasileiros**. 07 jul. 2021. Disponível em: <https://croplifebrasil.org/noticias/cresce-a-adoacao-de-produtos-biologicos-pelos-agricultores-brasileiros>. Acesso em: 19 jul. 2021.
- CUTHBERTSON, A. G. S.; BLACKBURN, L. F.; NORTHING, P.; LUO, W.; CANNON, R. J. C.; WALTERS, K. Further compatibility tests of the entomopathogenic fungus *Lecanicillium muscarium* with conventional insecticide products for control of sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci* on poinsettia plants. *Insect Science*, v. 15, p. 355-360, 2008.
- CUTHBERTSON, A. G. S.; BUXTON, J. H.; BLACKBURN, L. F.; MATHERS, J. J.; ROBINSON, K. K.; POWELL, M. E.; FLEMING, D. A.; BELL, H. A. Eradicating *Bemisia tabaci* Q biotype on poinsettia plants in the UK. *Crop Protection*, v. 42, p. 42-48, 2012.
- CREECH, C. F.; HENRY, R. S.; FRITZ, B. K.; KRUGER, G. R. Influence of herbicide active ingredient, nozzle type, orifice size, spray pressure, and carrier volume rate on spray droplet size characteristics. *Weed technology*, v. 29, n. 2, p. 298-310, 2015.
- DAMIN, S.; VILANI, A.; FREITAS, D.; KRASBURG, C.; QUEIROZ, J. A.; KAGIMURA, F. Y.; ONOFRE, S. B. Ação de fungicidas sobre o crescimento do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae*. *Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais*, v. 9, p. 41-49, 2011.
- EURE, P.M.; JORDAN, D. L.; FISHER, L. R.; YORK, A.C. Efficacy of herbicides when spray solution application is delayed. *International Journal of Agronomy*, v.2013, Article ID 782486, 7 pages, 2013.
- FELLAND, C. M.; PITRE, H. N. Soybean looper control, Test 2, 1989. *Insecticide and Acaricide Tests*, v. 15, p. 276-277, 1990.
- FERGUSON, J. C.; HEWITT, A. J.; O'DONNELL, C. C. Pressure, droplet size classification, and nozzle arrangement effects on coverage and droplet number density using air-inclusion dual fan nozzles for pesticide applications. *Crop Protection*, v. 89, p. 231-238, 2016.
- FIFE, J. P.; DERKSEN, R. C.; OZKAN, H. E.; GREWAL, P. S. Effects of pressure differentials on the viability and infectivity of entomopathogenic nematodes. *Biological Control*, v. 27, n. 1, p. 65-72, 2002.
- FIFE, J.; OZKAN, E.; DERKSEN, R.; GREWAL, P. S. Viability of a biological pest control agent through hydraulic nozzles. *Transactions of the ASAE*, v. 48, n. 1, p. 45-54, 2005.
- FURLONG, M. J.; GRODEN, E. Evaluation of synergistic interactions between the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) pathogen *Beauveria bassiana* and the insecticides, imidacloprid, and cyromazine. *Journal Economic Entomology*, v. 94, p. 344-356, 2001.

- GAN-MOR, S.; MATTHEWS, G. A. Recent Developments in Sprayers for Application of Biopesticides - an Overview. **Biosystems Engineering**, v. 84, n. 2, p. 119-125, 2003.
- GOULI, V.; KASSA, A.; SKINNER, M.; PARKER, B. L. Fungal conidia distribution on chrysanthemum: varying spray parameters. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 44, n. 6, p. 567-574, 2011.
- IBRAHIM, L.; BUTT, T. M.; BECKETT, A.; CLARK, S. J. The germination of oil-formulated conidia of the insect pathogen *Metarhizium anisopliae*. **Mycological Research**, v. 103, p. 901-907, 1991.
- INGLIS, D. G.; JARONSKI, S. T.; WRAIGHT, S. P. Use of spray oils with entomopathogens. In: BEATTIE, G. A. C.; WATSON, D. M. (Eds). **Spray Oils Beyond 2000: Sustainable Pest and Disease Management**. Hawkesbury: University of Western Sydney, 2002. p. 302-312.
- JAROS-SU, J.; GRODEN, E.; ZHANG, J. Effects of selected fungicides and the timing of fungicide application on *Beauveria bassiana*-induced mortality of the colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). **Biological Control**, v. 15, p. 259-269, 1999.
- KARIM, S.; MURTAZA, M.; RIAZUDDIN, S. Field evaluation of *Bacillus thuringiensis*, insect growth regulators, chemical pesticide against *Helicoverpa armigera* (Huber) (Lepidoptera: Noctuidae) and their compatibility for Integrated Pest Management. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 2, p. 320-326, 1999.
- KHALIQUE, F.; AHMED, K. Synergistic effect between *Bacillus thuringiensis* (Berliner) and Lambda-cyhalotrin (pyrethroid) against chickpea pod borer, *Helicoverpa armigera* (Hubner) **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 9, p. 1120-1123, 2001.
- KHUN, K. K.; ASH, G. J.; STEVENS, M. M.; HUWERE, R. K.; WILSON, B. A. L. Compatibility of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* with insecticides and fungicides used in macadamia production in Australia. **Pesticide Management Science**, v. 77, p. 709-718, 2020.
- KOOIJ, S.; SIJS, R.; DENN, M. M.; VILLERMAUX, E.; BONN, D. What determines the drop size in sprays? **Physical Review X**, v. 8, 031019, 2018.
- LOUREIRO, E. S.; MOINO JUNIOR, A.; ARNOSTI, A.; SOUZA, G. C. Efeito de Produtos fitossanitários Químicos Utilizados em Alfaca Crisântemo Sobre Fungos Entomopatogênicos. **Neotropical Entomology**, v. 31, n. 2, p. 263-269, 2002.
- LOUREIRO, E. S.; PESSOA, L. G. A.; PUTRICK, T. C.; PANTALEÃO, A. A.; DIAS, P. M. In vitro compatibility between insecticides and the commercial bioinsecticide Agree® WG. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 7, n. 1, p. 49-52, 2020.
- MACIEL, C. F.; TEIXEIRA, M. M.; FERNANDES, H. C.; ZOLNIER, S.; CECON, P. R. Droplet spectrum of a spray nozzle under different weather conditions. **Revista Ciência Agronômica**, v. 49, n. 3, p. 430-436, 2018.
- MAPA. **Agrofit: consulta aberta**. 2022. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agro_fit_cons>. Acesso em: 14 jan. 2022.
- MEDEIROS, F. R. **Patogenicidade de fungos a mosca-negra-dos-citros e compatibilidade entre agrotóxicos e *Purpureocillium lilacinum***. 2016. 76 p. Tese (Doutorado em Proteção de Plantas) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu.
- MINGUELA, J. V.; CUNHA, J. P. A. R. **Manual de aplicação de produtos fitossanitários**. Viçosa: Aprenda fácil, 2010. 588 p.
- OLIVEIRA, R. B. de; GAZZIERO, D. L. P.; TAVARES, A. A. C.; OLIVEIRA, J. V. de; BRESSAN, M.; BARROSO, A. A. M. Formulações e misturas de herbicidas em tanque. In: BARROSO, A. A. M.; MURATA, A. T. (Org.). **Matologia: estudos sobre plantas daninhas**. Jaboticabal: Fábrika da Palavra, 2021. p. 205-252.
- OMOTO, C. Modo de ação de inseticidas e resistência de insetos a inseticidas. In: GUEDES, J. C.; COSTA, I. D.; CASTIGLIONI, E. (Org.). **Bases e técnicas do manejo de insetos**. Santa Maria: Pallotti, 2000. p. 31-49.
- PESSOA, L. G. A.; DUTRA, K. R.; LOUREIRO, E. S.; ADÃO, D. V.; OLIVEIRA, G. S.; DIAS, P. M. The type of exposure interferes with the compatibility of herbicides with *Metarhizium rileyi*. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 6, e138963400, 2020a.
- PESSOA, L. G. A.; LOUREIRO, E. S. Compatibilidade de fungicidas utilizados no controle da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) (Sydow; P. Sydow) (Basidiomicotina: Urediniomycetes) com o fungo entomopatogênico *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson (Deuteromycotina: Hyphomycetes). In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 13., 2013, Bonito, MS. **Anais**. Brasília, DF: Embrapa, 2013.
- PESSOA, L. G. A.; SOUZA, T. M. N.; LOUREIRO, E. S. Compatibilidade de inseticidas utilizados no manejo de pragas em eucalipto com *Beauveria bassiana* (Cordycipitaceae). **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, 2020b.
- PINTO, L. M. N.; NATÁLIA, C. D.; RIBEIRO, A. P. A.; SALLES, S. M.; OLIVEIRA, J. V.; MENEZES, V. G.; FIUZA, L. M. *Bacillus thuringiensis* monogenic strains: screening and interactions with insecticides used against rice pests. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 43, p. 618-626, 2012.
- PROGRAMA NACIONAL DE BIOINSUMOS, **incentiva desenvolvimento sustentável na agropecuária**. BRASIL. MAPA, 27 maio 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/pt-br/noticias/agricultura-e-pecuaria/2020/05/programa-nacional-de-bioinsumos-incentiva-desenvolvimento-sustentavel-na-agropecuaria>. Acesso em: 25 mar. 2021.

- PURWAR, J. P.; SACHAN, G. C. Synergistic effect of entomogenous fungi on some insecticides Against Bihar hairy caterpillar *Spilarctia oblique* (Lepidoptera: Arctiidae). **Microbiology Research**, v. 161, p. 38-42, 2006.
- QUINTELA, E. D.; MCCOY, C. W. Synergistic effect of imidacloprid and two entomogenous fungi on behavior and survival of larvae of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae) in soil. **Journal Economic Entomology**, v. 91, p. 110-122, 1998.
- REDDY, D. S.; REDDY, M. L. N.; PUSHPALATHA, M. Interaction of fungicides with bio-control agents. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 6, n. 4, p. 545-551, 2018.
- ROBERTI, R.; RIGHINI, H.; MASETTI, A.; MAINI, S. Compatibility of *Beauveria bassiana* with fungicides in vitro and on zucchini plants infested with *Trialeurodes vaporariorum*. **Biological Control**, v. 113, p. 39-44, 2017.
- ROSSI-ZALAF, L. S.; ALVES, S. B.; LOPES, R. B.; SILVEIRA NETO, S.; TANZINI, M. R. Interação de micro-organismos com outros agentes de controle de pragas e doenças. In: ALVES, S. B.; LOPES, R. B. **Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios**. Piracicaba: FEALQ, 2008. p. 270-302.
- RU, Y.; LIU, Y.; QU, R.; PATEL, M. K. Experimental study on spraying performance of biological pesticides in aerial rotary cage nozzle. **International Journal of Agricultural and Biological Engineering**, v. 13, n. 6, p. 1-6, 2020.
- RUEDELL, J. Tecnologia de aplicação de defensivos. **Plantio Direto**, v. 19, n. 6, p. 9-11, 2002.
- SANTOS, C. A. M.; NASCIMENTO, J.; GONÇALVES, K. C.; SMANIOTTO, G.; ZECHIN, L. F.; FERREIRA, M. C.; POLANCZYK, R. A. Compatibility of Bt biopesticides and adjuvants for *Spodoptera frugiperda* control. **Scientific Reports**, v. 11, n. 5271, 2021, p. 1-8.
- SANTOS, T. T. M.; QUINTELA, E. D.; MASCARIN, G. M.; SANTANA, M. V.; Enhanced mortality of *Bemisia tabaci* nymphs by *Isaria javanica* combined with sublethal doses of chemical insecticides. **Journal Applied Entomology**, v. 142, p. 598-609, 2018.
- SILVA, R. Z.; NEVES, P. M. O. J.; SANTORO, P. H.; SILVIA, E.; CAVAGUCHI, P. H. Efeito de Agroquímicos à Base de Óleo Mineral e Vegetal sobre a Viabilidade dos Fungos Entomopatogênicos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin, *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin e *Paeclomyces* sp. Bainier. **BioAssay**, v. 1, n. 1, 2006.
- SILVA, A. F.; OLIVEIRA, R. B.; GANDOLFO, M. A. Mapping of the time available for application of pesticides in the state of Paraná, Brazil. **Acta Scientiarum**, v. 40, e.39421, 2018.
- SOSA-GÓMEZ, D. R.; LÓPEZ LASTRA, C.; HUMBER, R. A. An Overview of Arthropod Associated Fungi from Argentina and Brazil. **Mycopathologia**, v. 170, p. 61-76, 2010.
- SOSA-GÓMEZ, D. R. **Seletividade de agroquímicos para fungos entomopatogênicos**. Londrina: Embrapa Soja, 2005. Disponível em: http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPSo-2009-09/28931/1/seletiv_fung.pdf. Acesso em: 24 mar. 2021.
- TAMAI, M. A.; ALVES, S. B.; LOPES, R. B.; FAION, M.; PADULLA, L. F. L. Toxicidade de produtos fitossanitários para *Beauveria bassiana* (Balls.) Vuill. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, n. 3, p. 89-96, 2002.
- VEIGA, A. C. P. **Compatibilidade entre produtos químicos e biológicos à base de *Bacillus thuringiensis* Berliner no controle de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae)**. 2014. 76 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Jaboticabal.
- VON NOWAKONSKI, E. **Patogenicidade de fungos entomopatogênicos a mosca-negra-dos-citros, *Aleurocanthus woglumi* Ashby 1903 (Hemiptera: Aleyrodidae) e compatibilidade de produtos fitossanitários utilizados na cultura de citros**. 2019. 64 f. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no agronegócio) - Instituto Biológico, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, São Paulo.
- ZIMMERMANN, G. Über die Wirkung systemischer Fungizide auf verschiedene insektenpathogene Fungi imperfecti in vitro. **Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes**, v. 27, p. 113-117, 1975.

Tecnologia para liberação de agentes microbiológicos

Alexandre de Sene Pinto
Fernando Garcia Nicodemos
Rodolfo Pontes Carneiro
José Roberto Postalí Parra

Introdução

A cultura da soja sofre perdas devido ao ataque de diversas pragas, sendo os danos causados pelo complexo de lagartas e percevejos considerados os mais importantes (Hoffmann-Campo et al., 2012). No manejo dessas pragas, microbiológicos podem ser usados em programas de controle biológico aumentativo, dentro do Manejo Integrado de Pragas. Com os avanços científicos que reestruturam o Manejo Integrado de Pragas, especialmente quanto às tecnologias de liberação de agentes microbiológicos, essa filosofia está sendo reinventada e deixando de ser uma “ilusão” (Ehler; Bottrell, 2000; Pinto; Bueno, 2019). Com o crescimento do controle biológico no Brasil, aumentando a disponibilidade de produtos, essa tática passa a ser uma importante estratégia para a soja moderna (Bueno et al., 2012; Parra, 2014; Bortolotto et al., 2015; Pinto; Bueno, 2019; Parra, 2021).

O controle de pragas da soja utilizando agentes microbiológicos tem sido bastante estudado desde a década de 1980 no Brasil, onde o uso de *Trissolcus basalis*, para o controle de *Nezara viridula*, foi bem desenvolvido em laboratório e até para um certo uso em campo (Caltagirone, 1981; Corrêa-Ferreira; Moscardi, 1996), mas deixando muitas perguntas sem respostas quando o objetivo era a utilização em áreas de grandes dimensões (Pinto; Parra, 2002; Pinto; Parra, 2021). Essa é a realidade da maioria dos projetos mundiais de controle biológico.

São vários os fatores que interferem na liberação de agentes microbiológicos em campo, como a arquitetura e o estágio fenológico da planta, as condições meteorológicas durante e após a liberação, a fase de desenvolvimento e o momento de liberação, a quantidade liberada, a frequência de liberações e a tecnologia para a distribuição dos inimigos naturais em campo (Pinto; Parra, 2021). Conhecidos esses fatores e adaptados à realidade do agricultor, tem-se uma tecnologia de liberação de agentes microbiológicos bem desenvolvida.

Mas antes da liberação, outros fatores são igualmente importantes, como a disponibilidade do produto, a tecnologia para armazenamento, o preparo e o transporte do parasitoide ou predador, que são muitas vezes negligenciados (Pinto; Parra, 2021).

O sucesso de um programa de controle biológico depende, sem dúvida, do conhecimento de como um inimigo natural deve ser liberado em campo. O desconhecimento parcial ou total dos fatores que compõem a tecnologia de liberação em campos abertos e de grandes dimensões pode comprometer programas bem desenvolvidos. Os parasitoides *Trichogramma pretiosum*, *T. galloi* (Pinto; Parra, 2021) e *Cotesia flavipes* (Pinto et al., 2006; Pinto; Trujillo, 2019; Pinto, 2021) são os agentes macrobiológicos mais bem estudados no mundo, no quesito abordado, mas pouco ou nada se sabe sobre os demais parasitoides e, especialmente, predadores (Pinto; Parra, 2021).

Na atualidade, os agentes macrobiológicos mais utilizados em plantações de soja no Brasil são *Telenomus podisi*, para o controle de ovos de percevejos, e *T. pretiosum*, para o controle de ovos de mariposas, em soja convencional ou transgênica *Bt* (gênero *Spodoptera*) (Pinto; Bueno, 2019). O parasitoide *Telenomus remus* tem sido estudado para o controle de ovos de *Spodoptera* spp., mas ainda não chegou à fase de comercialização no Brasil, mesmo sendo um produto comercial em países vizinhos (Cave, 2000). Esses parasitoides terão mais destaque nesse capítulo.

Fatores que afetam a liberação

Fatores anteriores à liberação que afetam o controle

Muitos inimigos naturais foram desenvolvidos e são indicados para o controle de pragas específicas, mas nem sempre eles estão disponíveis. O surgimento de empresas para a multiplicação, em escala, e comercialização deve ser incentivada. É o caso de *T. podisi* para o controle de ovos de percevejos, que tem metodologia de produção bem definida (Silva et al., 2008; Mendoza et al., 2016), mas ainda tem pouca oferta no mercado (Parra, 2021).

Para a maioria dos agentes macrobiológicos, existem períodos de entressafra, especialmente para os utilizados quase que exclusivamente no controle de pragas da soja. É o caso de *T. podisi* novamente. Nesses casos, há a necessidade de armazenamento do produto para posterior utilização em campo. Entretanto, para a maioria dos parasitoides e predadores, não há possibilidade de armazenamento por longos períodos.

No caso específico de *T. podisi* é possível armazenar os ovos do hospedeiro em baixas temperaturas (Silva et al., 2019) ou em nitrogênio líquido (Favetti et al., 2014), como se fazia com os ovos de *N. viridula* para *T. basalis* (Corrêa-Ferreira; Oliveira, 1998; Foerster et al., 2004), por cerca de seis (Favetti et al., 2014) a sete meses (Foerster et al., 2004) e usá-los para o parasitismo perto da época de liberação em campo. Os adultos de *T. basalis* podem ser armazenados por 180 dias, a 15 °C ou 18 °C, sem perder a capacidade de parasitismo (Doetzer; Foerster, 2007).

O transporte para locais distantes necessita de alguns cuidados. Os insetos devem ser embalados em recipientes e mantidos em locais climatizados, adicionando-se alimento (mel ou pólen) ou presas para os predadores. Para se evitar o canibalismo entre indivíduos já emergidos, pode-se adicionar nas embalagens, como sugestão, papel, serragem, vermiculita, farinha de trigo, trigo sarraceno, casca de arroz, colar em cartões etc. (Pinto; Parra, 2021).

O transporte do escritório para o campo também pode comprometer a sobrevivência dos insetos. Deve-se evitar os choques térmicos, que muitas vezes levam os insetos à morte em segundos ou podem comprometer a qualidade deles após a liberação.

Fatores durante a liberação

Arquitetura e fenologia das plantas

As plantas cultivadas têm formas e tamanhos variados, desde à germinação até a senescência e a arquitetura da planta pode afetar a capacidade de busca, a eficiência e a dispersão do parasitoide ou do predador.

O raio de ação de um parasitoide geralmente é maior nas fases iniciais de desenvolvimento da cultura, como acontece com *T. pretiosum* em soja (Pomari, 2013), parasitando ovos de diferentes espécies de lepidópteros. Isso porque o tamanho e a arquitetura das plantas interferem na dispersão do parasitoide ou predador, especialmente por permitirem maior ou menor circulação dos insetos por entre elas, influenciada pelo vento (Silva, 2007).

A variedade de soja utilizada pode interferir no parasitismo de algumas espécies. Vários trabalhos indicam diferenças na eficácia de parasitoides, que pode estar ligado às diferenças morfológicas entre elas ou com a diferença na produção de aleloquímicos (Gonçalves-Gervásio et al., 2000). É o caso do parasitoide *Encarsia* spp. em soja-hortaliça (Pessoa, 2009).

O clima interferindo na eficácia de controle durante e após as liberações

Segundo Stiling (1993), dentre as causas para o insucesso da liberação de um inimigo natural, o clima é uma das mais importantes. Sem dúvida, é um dos fatores mais delicados para as decisões tomadas para a liberação de agentes macrobiológicos em campo, visto esses organismos serem pecilotérmicos (sua temperatura interna é alterada de acordo com a variação térmica do ambiente).

No momento da liberação, a temperatura acima ou abaixo da faixa térmica ideal para o desenvolvimento de um organismo em laboratório (Parra, 2002) poderia comprometer a sobrevivência do parasitoide ou do predador. Entretanto, esse efeito deletério é amenizado pelo microclima formado pelas plantas, que é variável com o estágio fenológico da cultura, ou pelos componentes do agroecossistema, como o palhicho (Egydio, 2019), curvas de nível, posição do terreno (Silva, 2015), etc.

Os microambientes criados pelos agroecossistemas (Angelocci et al., 1996) costumam interferir na distribuição de insetos pela planta. A variação de temperatura e umidade relativa do ar (U.R.) dentro de uma plantação ou entre as partes da planta podem ser bem expressivas (Sousa et al., 2011; Ivan, 2018).

Para parasitoides, a ação do microambiente se reflete no parasitismo, que é maior nos horários mais quentes do dia (Junqueira et al., 2012; Sanitá et al., 2012; Guidetti, 2013; Litholdo, 2014), mesmo se o hospedeiro estiver exposto à radiação solar (Nogueira, 2017). O parasitoide *T. podisi* utiliza a serapilheira para se abrigar em períodos com neve (Lahiri et al., 2017). Em dias muito quentes, braconídeos não são tão afetados quando se localizam no meio do palhicho sobre o solo (Egydio, 2019). A chuva pode prejudicar o parasitoide no momento da liberação (Novelli, 2017), mas o mesmo não acontece logo após (Junqueira et al., 2012; Sanitá et al., 2012).

Se evitando os choques térmicos e a exposição ao sol, os parasitoides podem ser liberados em qualquer horário do dia, como observado por Vasconcelos et al. (2011) para *T. pretiosum* parasitando ovos de *Anagasta kuehniella* em milho e por Zanatto et al. (2013) para *C. flavipes* parasitando lagartas de *D. saccharalis* em cana-de-açúcar.

Fase de desenvolvimento liberada e momento da liberação

A fase adulta é a preferida para a liberação em campo. Para predadores, porque a dispersão é maior, além de serem mais vorazes do que as larvas para muitos grupos. Para parasitoides, porque essa é a fase que irá parasitar. Mas essa decisão sempre foi pela lógica e não pela comprovação de fatos.

Historicamente, os parasitoides do gênero *Trichogramma* são liberados na fase adulta (Smith, 1994). Entretanto, a liberação de pupas tem mostrado resultados iguais (Rossi et al., 2012; Arroyo et al., 2014; Cantori et al., 2015; Afonso et al., 2017; Ivan et al., 2017) ou superiores aos da liberação de adultos (Litholdo et al., 2013) (Figura 1), especialmente quando as condições meteorológicas são aparentemente adversas para *Trichogramma* spp. (Pinto et al., 2003).

O momento de liberação de um parasitoide ou predador é muito importante para o sucesso do controle biológico e está intimamente ligado ao monitoramento da praga, que deve ser realizado e seguir as técnicas recomendadas, dentro dos preceitos do Manejo Integrado de Pragas (Kogan, 1998; Kogan; Jepson, 2007).

Quantidade liberada e distribuição dos inimigos naturais

Quando se pretende introduzir um inimigo natural em uma área (controle biológico clássico) ou apenas fazer certa pressão negativa sobre populações de pragas, a quantidade a ser liberada não tem tanta importância quanto àquela exigida para o controle biológico aplicado (ou aumentativo).

No campo, as gerações sucessivas do inimigo natural acabam por oferecer a quantidade necessária para controlar a praga-alvo, prática essa que é mais corretamente chamada de inoculação sazonal (Parra et al., 2002).

A liberação do inimigo natural em quantidades menores do que a necessária tornaria a tática ineficaz no controle de uma determinada praga. Por outro lado, as liberações de quantidades excessivas, além de um alto custo, pode ter a eficácia de controle comprometida. Essa diminuição da eficácia para os parasitoides, a partir de certa quantidade liberada, pode estar ligada a confusão no reconhecimento dos hospedeiros marcados como parasitados e a competição por alimento entre as fêmeas (Ueno; Tanaka, 1994; Chen et al., 2016).

A diminuição da eficácia ocorre para *T. pretiosum* no controle de *Bonagota salubricola*, a partir de 150.000 (Pastori et al., 2008), para *T. podisi* no controle de *E. heros*, a partir de 7.500 (Tibaldi, 2017), e para *T. remus* no controle de *S. frugiperda*, a partir de 25.000 (Silva et al., 2016).

Tibaldi (2017), estudando a quantidade liberada de *T. podisi* em diferentes níveis de infestação artificial de ovos de *E. heros* em soja, no Brasil, constatou que para infestações até 100.000 ovos do percevejo a quantidade de 2.500 parasitoides foi a mais eficaz, mas para infestações entre 200.000 e 400.000 ovos, a quantidade ideal foi de 5.000 parasitoides por hectare (Tabela 1).

Se a quantidade liberada é essencial para o sucesso do controle, não menos importante é a distribuição de um inimigo natural no campo. Essa distribuição está intimamente ligada à capacidade de dispersão do predador ou parasitoide. Quanto maior a capacidade de dispersão, menor a necessidade de espalhamento do inimigo natural.

Tabela 1. Porcentagem média de parasitismo de ovos de *Euschistus heros*, em diferentes níveis de infestação artificial, após a liberação de diferentes quantidades de adultos de *Telenomus podisi* em campo de soja (Tibaldi, 2017).

Ovos de <i>E. heros</i> por hectare	Quantidade liberada de <i>T. podisi</i> por hectare		
	2.500	5.000	7.500
100.000	72,03 ab	78,37 a	63,33 b
200.000	75,62 b	90,69 a	79,42 b
300.000	76,44 b	90,87 a	76,14 b
400.000	81,17 b	89,75 a	77,79 c

Médias (\pm erro padrão da média) seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

Por isso, a quantidade de pontos de liberação varia muito com a espécie, linhagem utilizada, arquitetura da planta e com as condições climáticas na época de liberação (Pinto et al., 2003; Pinto; Parra, 2021).

A liberação terrestre e de adultos é o meio mais relatado na literatura mundial (Pinto; Parra, 2021). Entretanto, a liberação aérea de pupas, especialmente por meio de drones, tem sido a melhor opção pela facilidade da aplicação e distribuição mais ampla dos inimigos naturais.

Os fatores bióticos, como predação, e os abióticos, como a clima, podem afetar drasticamente a liberação de parasitoides na forma pupal sem algum tipo de proteção, como cápsulas com perfurações para a saída do adulto (Pinto; Parra, 2021). Entretanto, Grande (2019), estudando a simulação da liberação aérea de pupas protegidas ou desprotegidas de *T. pretiosum*, *T. remus* e *T. podisi* verificou que tanto a proteção, quanto a falta dela, mostram problemas para a sobrevivência dos parasitoides.

A técnica de liberação de pupas desprotegidas de *Trichogramma* foi viabilizada e provada ser eficaz por Mills et al. (2000) para o controle de *Cydia pomonella* em pomares de maçã e pera nos EUA. Apesar dos inimigos naturais estarem desprotegidos, a quantidade por área é tão pequena que os predadores têm dificuldade para achá-los (Mills et al., 2000; Pinto, 1999; Pinto; Parra, 2021), como provado para *T. pretiosum* por Cantori et al. (2013).

Frequência e intervalo entre liberações

Outros fatores muito importantes para o sucesso da liberação de um agente de controle biológico são a frequência e o intervalo entre liberações. Muitos inimigos naturais atuam por pouco tempo no campo após a liberação e, depois de certo tempo, necessitam ser novamente liberados para que a praga seja mantida em níveis não prejudiciais à cultura.

Normalmente, três liberações seguidas são necessárias para grande parte dos parasitoides comercializados, em intervalo de uma semana entre elas.

Em soja, para o controle de ovos de percevejos, especialmente *E. heros*, são indicadas duas liberações, em intervalo mensal, de *T. podisi*, em áreas de baixa pressão da praga, e três liberações em intervalo quinzenal, em áreas de alta pressão (especialmente aquelas áreas que serão colhidas por último) (Pinto; Bueno, 2019) (Figura 1).

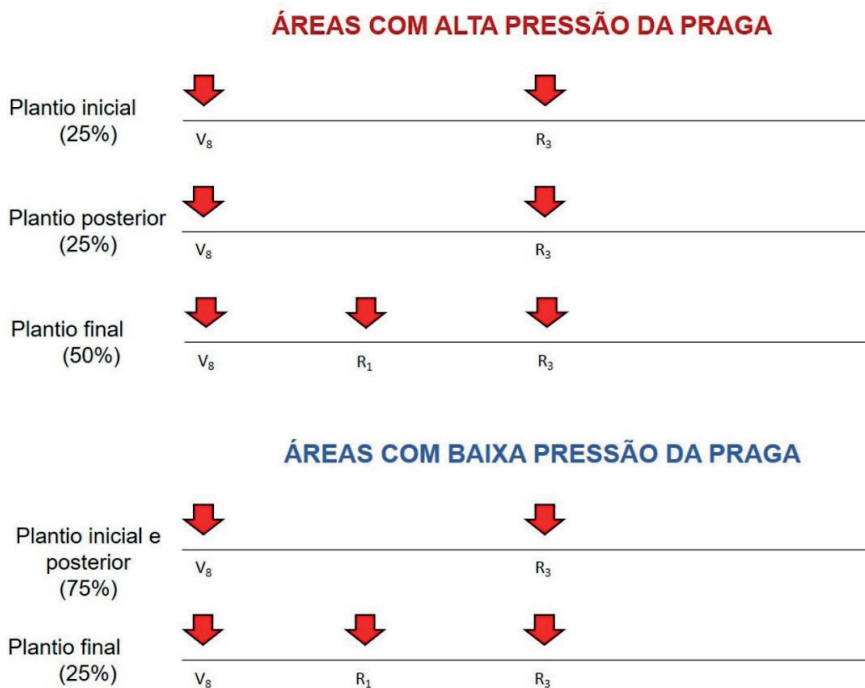


Figura 1. Esquema de liberação de *Telenomus podisi* em diferentes estádios fenológicos de lavouras de soja semeadas precoce e tardiamente, em regiões de alta e baixa pressão de *Euschistus heros*

Fonte: Pinto; Bueno, 2019.

Uso de drones na liberação de agentes microbiológicos

A automação dos processos através de sistemas eletrônicos embarcados e o uso de inteligência artificial para atacar de maneira mais eficiente os problemas de controle de pragas utilizando os microbiológicos vêm se tornando uma solução inevitável.

A primeira tentativa de liberação aérea de microbiológicos surge com uma patente e diretamente relacionada com o tema proposto. Maedgen, em 1981, obteve a patente nominada “*Method and Apparatus for Airborne Release of Insect Eggs*” (nº US4260108A), bastante antiga, sem registros de outras ideias inventivas e sem extensão para o Brasil. O equipamento realizava a liberação avulsa dos ovos parasitados e não permitia o controle dinâmico da taxa de liberação. Em 2002, nos EUA, Mills et al. (2002) realizaram os primeiros testes de dispositivos direcionados à liberação aérea de *T. minutum* em macieiras. Os trabalhos de Mills et al. (2002) evoluíram e segundo a referência de Center et al. (2008), os dispositivos utilizados para a liberação aérea da *Trichogramma* ainda estavam em desenvolvimento.

Park e Gururajan (2014) realizaram testes bem-sucedidos com um aeromodelo entregando “bombas” de controle biológico. O sistema proposto consistia em um helicóptero controlado por rádio carregando um dispositivo para armazenar e lançar as bombas cheias de parasitoides.

Outras soluções para os drones são bem recentes e apresentadas por algumas empresas (Aerobugs, 2022; Heighttech, 2022; Sport Turf Consulting, 2022). Foram adaptados multirrotores de aplicação

principal, em captação de imagens, para liberação de ovos de *Trichogramma* spp. encapsulados. Esse formato de liberação não é preciso e é pouco escalável.

Também recentemente, surge o procedimento de operação da liberação de microbiológicos com um sistema chamado BioBOT, da NCB, que será descrito.

Primeiramente o usuário deve adquirir o insumo biológico no formato de ovos avulsos parasitados a granel diretamente de uma biofábrica existente. Após a disponibilidade do produto, o usuário deverá se dirigir a área onde será realizado o tratamento. Inicialmente, o compartimento do liberador BioBOT deve ser preenchido com o produto. Em seguida, é realizado o planejamento da rota do drone sobre a área a ser tratada, de acordo com os parâmetros de voo e de liberação, permitindo a rastreabilidade digital de toda a operação. Após a instalação completa, a missão é executada e o drone realiza o voo autônomo sobre a área. Com a execução do voo, o sistema embarcado multiuso realiza a liberação, coletando os ovos do compartimento pelo rotor geometricamente desenvolvido para não esmagar os parasitoides. Os ovos são liberados em mililitros por hectare, controlado pelo GPS. Após toda liberação, os dados digitais armazenados são enviados para um ambiente virtual de armazenamento de dados (nuvem) para emissão dos relatórios.

A taxa de liberação (R_r , em mL ha^{-1}) é um fator chave na aplicação aérea de insumos biológicos com drones. Em uma determinada área que se deseja controlar uma praga, é necessário manter essa taxa constante para garantir a uniformidade da aplicação. Assim, a liberação depende das seguintes grandezas a serem consideradas:

V = velocidade da aeronave em km h^{-1} (em mph em alguns casos);

L = é a largura da faixa em metros;

R_r = é a taxa de liberação em mL ha^{-1} (em g ha^{-1} em alguns casos)

Dado que a velocidade da aeronave está sujeita a perturbações que resultam em variações nos resultados de liberação, é necessário introduzir um controlador de vazão que permita manter a taxa de liberação constante. Trabalhar com vazão é mais confiável, visto que os ovos parasitados por *Trichogramma* spp. perdem água diariamente e, conseqüentemente, peso até a emergência dos adultos.

Muito se tem para evoluir na aplicação de parasitoides e predadores com drones, como a duração da bateria para uma melhor autonomia do voo. Mas o futuro é muito promissor e garantirá um aumento no uso de produtos microbiológicos na cultura da soja e de forma cada vez mais precisa.

Considerações finais

Muitos produtos microbiológicos estão sendo lançados para o controle de pragas da soja, com enorme potencial de controle, mas pouco se conhece sobre a tecnologia de liberação desses parasitoides e predadores, o que certamente comprometerá sua utilização.

O conhecimento da relação planta, praga e inimigo natural precisa evoluir, pois a arquitetura vegetal dos diferentes estádios fenológicos, o clima dos microambientes, a dinâmica populacional da praga, o autocontrole populacional dos parasitoides e predadores e suas gerações subsequentes e o efeito de fatores externos, como a aplicação de agroquímicos etc., interferem drasticamente na eficácia do biocontrole (Pinto; Parra, 2021).

O uso de drones para a liberação de parasitoides na cultura da soja é um avanço nessa tecnologia, mas se não for bem compreendido, poderá comprometer o seu progresso.

Referências

- AEROBUGS. **Bug dispensing**. Disponível em: www.aerobugs.com.au/bug-dispensing. Acesso em: 10 mar. 2022.
- AFONSO, V. S.; OLIVEIRA, A. J. M. B.; ARAÚJO JR., L. P.; SANTOS, A. J. P. S.; CARNEIRO, R. P.; PINTO, A. de S. Comparação entre liberação de pupas e adultos de *Trichogramma pretiosum* para o controle de ovos de *Spodoptera frugiperda* em milho. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 15., Ribeirão Preto, 2017. **Anais...** Ribeirão Preto: FCAV, Unesp, 2017.
- ANGELOCCI, L. R.; VILLA NOVA, N. A.; PARRA, J. R. P.; SILVEIRA NETO, S. Temperatura do colmo de cana-de-açúcar e sua relação com as condições meteorológicas na região de Piracicaba, SP. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, v. 4, n. 2, p. 49-56, 1996.
- ARROYO, B. M.; LITHOLDO, M. G.; OLIVEIRA, A. J. M. B.; RODRIGUES, L. R.; SANTOS, F. B. T. Q.; PINTO, A. S.; OLIVEIRA, H. N.; CARVALHO, D. R. Liberação aérea de *Trichogramma galloi*, pela técnica de espalhamento de pupas desprotegidas, no controle de ovos de *Diatraea saccharalis* em cana-de-açúcar. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 25., Goiânia, 2014. **Anais...** Goiânia: Embrapa Arroz e Feijão/UFG, 2014.
- BORTOLOTO, O. C.; POMARI-FERNANDES, A.; BUENO, R. C. O. F.; BUENO, A. F.; KRUIZ, Y. K. S.; QUEIROZ, A. P.; SANZOVO, A.; FERREIRA, R.B. The use of soybean integrated pest management in Brazil: a review. **Agronomy Science and Biotechnology**, v. 1, p. 25-32, 2015.
- BUENO, A. F.; BRAZ, E. C.; FAVETTI, B. M.; FRANÇA NETO, J. B. F.; SILVA, G. V. Release of the egg parasitoid *Telenomus podisi* to manage the Neotropical Brown Stink Bug, *Euschistus heros*, in soybean production. **Crop Protection**, v. 137, 105310, 2020.
- BUENO, R. C. O. F.; PARRA, J. R. P.; BUENO, A. F. *Trichogramma pretiosum* parasitism and dispersal capacity: a basis for developing biological control programs for soybean caterpillars. **Bulletin of Entomological Research**, v. 102, p. 1-8, 2012.
- CALTAGIRONE, L. E. Landmark examples in classical biological control. **Annual Review of Entomology**, v. 26, p. 213-231, 1981.
- CANTORI, L. V.; LITHOLDO, M. G.; ARROYO, B. M.; PINTO, A. S.; VASCONCELOS, G. R. Eficiência da técnica de espalhamento de pupas de *Trichogramma pretiosum* no controle de ovos de lepidóptero no campo. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 13., Bonito, 2013. **Resumos...** Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste/UFMS, 2013.
- CANTORI, L. V.; PINTO, A. S.; OLIVEIRA, A. J. M. B.; PADILHA, I. M. N.; KOBAYASHI, A. I. F.; SILVA, K. R. ; OLIVEIRA, H.N. Comparison between the releasing of different amounts of pupae and adults of *Trichogramma pretiosum* in controlling lepidopteran eggs in soybean. In: ANNUAL MEETING OF THE ENTOMOLOGICAL SOCIETY OF AMERICA, 63., Minneapolis, 2015. **Abstracts...** Minneapolis: ESA, 2015.
- CAVE, R. D. Biology, ecology and use in pest management of *Telenomus remus*. **Biocontrol News and Information**, v. 21, n. 1, p. 21-26, 2000.
- CENTER, T.; van DRIESCHE, R.; HODDLE, M. **Control of pests and weeds by natural enemies: an introduction to biological control**. Singapura: Blackwell Publishing, 2008. 488p.
- CHEN, X. L.; BORDINI, G. B.; STANSLY, P. A. Avoidance of parasitized hosts by female wasps of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoid of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae), vector of citrus greening disease. **Florida Entomologist**, v. 99, p. 311-313, 2016.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. Biological control of soybean stink bugs by inoculative releases of *Trissolcus basalís*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 79, p. 1-7, 1996.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S.; OLIVEIRA, M. N. Viability of *Nezara viridula* (L.) eggs for parasitism by *Trissolcus basalís* (Woll.), under different storage techniques in liquid nitrogen. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 27, n. 1, p. 101-107, 1998.
- DOETZER, A. K.; FOERSTER, L. A. Desenvolvimento, longevidade e reprodução de *Trissolcus basalís* (Wollaston) e *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae) em condições naturais durante a entressafra da soja no sul do Paraná. **Neotropical Entomology**, v. 36, n. 2, p. 233-242, 2007.
- EGYDIO, M. M. **Viabilidade do espalhamento de pupas de *Cotesia flavipes* tratadas com repelente de predadores em diferentes ambientes no canavial**. 2019. 43 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Centro Universitário Moura Lacerda, Ribeirão Preto.
- EHLER, L. E.; BOTTRELL, D. G. The illusion of integrated pest management. **Issues in Science and Technology**, v. 16, p. 61-64, 2000.
- FAVETTI, B. M.; BUTNARIU, A. R.; DOETZER, A. K. Storage of *Euschistus heros* eggs (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae) in liquid nitrogen for parasitization by *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Platygasteridae). **Neotropical Entomology**, v. 43, p. 291-293, 2014.

- FOERSTER, L. A.; DOETZER, A. K.; CASTRO, L. C. F. Emergence, longevity and fecundity of *Trissolcus basalís* and *Telenomus podísí* after cold storage in the pupal stage. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 39, n. 9, p. 841-845, 2004.
- GONCALVES-GERVÁSIO, R. C. R.; CIOCIOLA, A. I.; SANTA-CECILIA, L. V. C.; MALUF, W. R. Parasitismo de ovos de *Tuta absoluta* por *Trichogramma pretiosum* em diferentes genótipos de tomateiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 35, n. 6, p. 1269-1274, 2000.
- GRANDE, M. L. M. Fatores bióticos e abióticos interferindo na eficiência de *Trichogramma pretiosum*, *Telenomus remus* e *Telenomus podísí* no manejo de pragas em soja e milho. 2019. 112p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.
- GUIDETTI, E. S. Ritmo de parasitismo de *Trichogramma pretiosum* sobre ovos de *Anagasta kuehniella* em milho. 2013. 22f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Centro Universitário Moura Lacerda, Ribeirão Preto, 2013.
- HEIGHTTECH. Products. Disponível em: www.heighttech.com/en/products. Acesso em: 10 mar. 2022.
- HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. (Eds.). *Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga*. Brasília: Embrapa, 2012. 858p.
- IVAN, I. A. F. A distribuição de adultos no canavial e na planta influenciando a oviposição de *Diatraea saccharalis* e o parasitismo de seus ovos por *Trichogramma galloi* em cana-de-açúcar. 2018. 28 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Centro Universitário Moura Lacerda, Ribeirão Preto.
- IVAN, I. A. F.; ALEXANDRE, N. O.; STOPPA, N. S.; OLIVEIRA, A. J. M. B.; SILVA, K. R.; PINTO, A. S. Estratégias de liberação de pupas e adultos de *Trichogramma pretiosum* para o controle de ovos de *Spodoptera frugiperda* em milho. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOSSANIDADE, 4., Uberaba, 2017. *Anais...* Ribeirão Preto: FCAV, Unesp, 2017.
- JUNQUEIRA, V. R. P.; IVAN, E. A. F.; SANITÁ, D. A.; SILVA, T. L.; SILVA, B. F. B.; PINTO, A. S. Ritmo de parasitismo de *Trichogramma pretiosum* sobre ovos de *Anagasta kuehniella* em duas condições meteorológicas em lavoura de milho. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 29., Águas de Lindoia, 2012. *Resumo expandido...* Sete Lagoas: ABMS, 2012. p. 1008-1012.
- KOGAN, M. Integrated pest management: historical perspectives and contemporary development. *Annual Review of Entomology*, v. 43, p. 243-270, 1998.
- KOGAN, M.; JEPSON, P. Ecology, sustainable development and IPM: the human factor. In: KOGAN, M.; JEPSON, P. (Eds.). *Perspectives in ecological theory and integrated pest management*. Cambridge, UK: Cambridge University, 2007. p. 1-44.
- LAHIRI, S.; ORR, D.; SORENSON, C.; CARDOZA, Y. J. Behavior of *Telenomus podísí* (Hymenoptera: Platygasteridae) adults under overwintering conditions. *Journal of Entomological Science*, v. 52, n. 1, p. 15-28, 2017.
- LITHOLDO, M. G. Ritmo de parasitismo de *Trichogramma pretiosum* sobre ovos de *Anagasta kuehniella* em campo. 2014. 26f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Centro Universitário Moura Lacerda, Ribeirão Preto, 2014.
- LITHOLDO, M. G.; ARROYO, B. M.; PINTO, A. S.; VASCONCELOS, G. R.; ROSSI, M. M. Comparação entre a liberação de pupas e adultos de *Trichogramma galloi* no controle de *Diatraea saccharalis* em cana-de-açúcar. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 13., Bonito, 2013. *Anais...* Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste / UFGD, 2013.
- MENDOZA, A. C.; ROCHA, A. C.; PARRA, J. R. P. Lyophilized artificial diet for rearing the Neotropical *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae). *Journal of Insect Science*, v. 16, n. 1, p. 1-9, 2016.
- MILLS, N.; PICKEL, C.; MANSFIELD, S.; McDUGALL, S.; BUCHNER, R. et al. Mass releases of *Trichogramma* wasps can reduce damage from codling moth. *California Agriculture*, v. 54, n. 6, p. 22-25, 2000.
- MILLS, N.; PICKEL, C.; RAMOS, D.; Aerial release of *Trichogramma* to control codling moth. *Pest Management Grants Progress Report*, 2002. 16p.
- NOGUEIRA, P. H. Z. A insolação influenciando no parasitismo de ovos de *Anagasta kuehniella* por *Trichogramma pretiosum* em diferentes culturas. 2017. 25 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Centro Universitário Moura Lacerda, Ribeirão Preto.
- NOVELLI, M. X. A precipitação pluviométrica influenciando a predação de “massas” de *Cotesia flavipes* em solo após simulação de liberação aérea. 2017. 44 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Centro Universitário Moura Lacerda, Ribeirão Preto.
- PARK, Y. L.; GURURAJAN, S. Aerial survey and management of invasive pests. 2014. Disponível em: www.potomacpartnership.org/wp-content/uploads/2015/11/Aerial-Survey_YL.Park_.pdf. Acesso em: 10 jan. 2022.
- PARRA, J. R. P. Biological control in Brazil: an overview. *Scientia Agricola*, v. 71, p. 345-355, 2014.
- PARRA, J. R. P. Casos de sucesso de Controle Biológico por macro-organismos, com parasitoides e predadores no Brasil, em diferentes culturas e agentes potenciais para programas de Controle Biológico. In: PARRA, J. R. P.; PINTO, A. de S.; NAVA, D. E.; OLIVEIRA, R. C. de; DINIZ, A. J. F. (Eds.). *Controle Biológico com Parasitoides e Predadores na Agricultura Brasileira*. Piracicaba: Fealq, 2021. p. 77-98.

- PARRA, J. R. P. Criação massal de inimigos naturais. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Eds.) **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 143-164.
- PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. Controle biológico: terminologia. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Orgs.). **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 1-16.
- PASTORI, P. L.; MONTEIRO, L. B.; BOTTON, M. Capacidade de dispersão de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em pomar adulto de macieira. **Boletim da Sanidad Vegetal. Plagas**, v. 34, n. 2, p. 239-245, 2008.
- PESSOA, R. Infestação e parasitismo natural de ninfas de *Bemisia tabaci* biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) em soja-hortaliça e elaboração de chave de identificação de *Encarsia* spp. (Hymenoptera: Aphelinidae). 2009. 45 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) - FCAV, UNESP, Jaboticabal.
- PINTO, A. S. Comparação de técnicas de liberação e atuação de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 em infestações artificiais de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) prejudiciais à cana-de-açúcar 1999. 83f. Tese (Doutorado em Entomologia) - ESALQ USP, Piracicaba, 1999.
- PINTO, A. S. O Caso de *Cotesia flavipes* na cana-de-açúcar no Brasil. In: PARRA, J. R. P.; PINTO, A. de S.; NAVA, D. E.; OLIVEIRA, R. C. de; DINIZ, A. J. F. (Eds.). **Controle Biológico com Parasitoides e Predadores na Agricultura Brasileira**. Piracicaba: Fealq, 2021. p. 159-202.
- PINTO, A. S.; PARRA, J. R. P. Tecnologia de liberação de parasitoides e predadores. In: PARRA, J. R. P.; PINTO, A. de S.; NAVA, D. E.; OLIVEIRA, R. C. de; DINIZ, A. J. F. (Eds.). **Controle Biológico com Parasitoides e Predadores na Agricultura Brasileira**. Piracicaba: Fealq, 2021. p. 427-480.
- PINTO, A. S.; BUENO, R. C. O. F. Soybean. In: SOUZA, B.; VAZQUEZ, L. L.; MARUCCI, R. C. (Eds.). **Natural enemies of insect pest in neotropical agroecosystems: biological control and functional biodiversity**. Switzerland, SW: Springer, 2019. p.397-412.
- PINTO, A. S.; GARCIA, J. F.; BOTELHO, P. S. M. Controle biológico de pragas da cana-de-açúcar. In: PINTO, A. de S.; NAVA, D. E.; ROSSI, M. M.; MALERBO-SOUZA, D. T. (Orgs.). **Controle biológico de pragas: na prática**. Piracicaba: CP2, 2006. p.65-74.
- PINTO, A. S.; PARRA, J. R. P. Liberação de inimigos naturais. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Orgs.). **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p.325-342.
- PINTO, A. S.; PARRA, J. R. P.; OLIVEIRA, H. N.; ARRIGONI, E. B. Comparação de técnicas de liberação de *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae). **Neotropical Entomology**, v. 32, n. 2, p. 311-318, 2003.
- PINTO, A. S.; TRUJILLO, S. E. L. Sugarcane. In: SOUZA, B.; VAZQUEZ, L. L.; MARUCCI, R. C. (Eds.). **Natural enemies of insect pest in neotropical agroecosystems: biological control and functional biodiversity**. Switzerland, SW: Springer, 2019. p.413-425.
- POMARI, A. F. Características biológicas de *Telenomus remus* Nixon em ovos de *Corcyra cephalonica* (Stainton) e *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith): bases para o desenvolvimento de programas de controle biológico aplicado para as culturas da soja e do milho. 2013. 110 f. Tese (Doutorado em Entomologia) - FFCLRP, USP, Ribeirão Preto.
- ROSSI, M. M.; OLIVEIRA, L. P. M.; IVAN, E. A. F.; PINTO, A. S. Comparação entre a liberação de pupas e adultos de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) no controle de ovos de lepidópteros em campo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 24., Curitiba, 2012. **Anais...** Curitiba: UFPR, 2012.
- SANITÁ, D. A.; IVAN, E. A. F.; SILVA, T. L.; PINTO, A. S. Ritmo de parasitismo de *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) sobre lagartas de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em canavia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 24., Curitiba, 2012. **Resumos...** Curitiba: UFPR, 2012.
- SILVA, C. C.; LAUMANN, R.; BLASSIOLI, M. C.; PAREJA, M.; BORGES, M. *Euschistus heros* mass rearing technique for the multiplication of *Telenomus podisi*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 5, p. 575-580, 2008.
- SILVA, C. S. B. Dispersão do parasitoides de ovos *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae) e sua interação com algumas variáveis ambientais em agroecossistemas de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.). 2007. 139 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) - FCAV, UNESP, Jaboticabal.
- SILVA, G. V.; BUENO, A. F.; FAVETTI, B. M.; NEVES, P. M. O. J. Use of low temperature storage to preserve host and parasitoid to improve the rearing of *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platygasteridae) on *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) eggs. **Neotropical Entomology**, v. 48, p. 126-135, 2019.
- SILVA, K. R. Parasitismo de ovos de *Anagasta kuehniella* por *Trichogramma pretiosum* em diferentes microrregiões de um mesmo ambiente. 2015. 31 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Centro Universitário Moura Lacerda, Ribeirão Preto.
- SILVA, K. R.; LOBOSCHI, D. L.; ALEXANDRE, N. O.; CARNEIRO, R. P.; ARROYO, B. M. et al. Quantidade liberada de *Telenomus remus* no controle de ovos de *Spodoptera frugiperda* em milho de segunda safra. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 31., Bento Gonçalves, 2016. **Resumo expandido...** Sete Lagoas: ABMS, 2016. p.308-313.

SMITH, S. M. Methods and timing of releases of *Trichogramma* to control lepidopterous pests. In: WAINBERG, E.; HASSAN, S. A. (Eds.). **Biological control with egg parasitoids**. Wallingford: CAB International, 1994. p. 113-144

SOUSA, A.L.; SANTA-CECÍLIA, L.; PRADO, E. Influência da temperatura na distribuição vertical da cochonilha-branca, *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae) em plantas de café. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78, n. 4, p. 619-622, 2011.

SPORT TURF CONSULTING. **Biological control of European corn borer**. Disponível em: www.sportsturf.it/trichogramma-dropping-drone-corn-borer. Acesso em: 10 jan. 2022.

STILING, P. Why do natural enemies fail in classical biological control programs? **American Entomologist**, v. 39, p. 31-37, 1993.

TIBALDI, G. R. **Controle de ovos em diferentes infestações de *Euschistus heros* com liberações de diferentes quantidades de *Telenomus podisi* na soja**. 2017. 29f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Centro Universitário Moura Lacerda, Ribeirão Preto, 2017.

UENO, T.; TANAKA, T. Can a female parasitoid recognize a previously rejected host? **Animal Behavior**, v. 47, p. 988-990, 1994.

VASCONCELOS, G. R.; PINTO, A. S.; PARRA, J. R. P.; GOMES, A. A. L.; AFONSO JR., V. A. Efeito do horário de liberação de *Trichogramma pretiosum* no parasitismo de ovos da traça *Anagasta kuehniella*. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 12., São Paulo, 2011. **Anais...** São Paulo: Instituto Biológico, 2011.

ZANATTO, B.; IVAN, E. A. F.; DIAS, T. A. M.; PINTO, A. S. Horário de liberação de *Cotesia flavipes* influenciando o parasitismo de lagartas de *Diatraea saccharalis* em cana-de-açúcar. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 13., Bonito, 2013. **Resumos...** Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste/UFMS, 2013.



PARTE III

RIZOSFERA E SAÚDE DO SOLO

Fixação biológica do nitrogênio

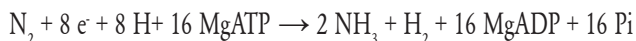
*Mariangela Hungria
Marco Antonio Nogueira*

Introdução

O nitrogênio (N) é o nutriente requerido em maior quantidade pelas plantas e, com maior frequência, sua baixa disponibilidade é fator limitante à produção agrícola. Isso decorre de seu papel desde a base da vida, na composição dos ácidos nucleicos (DNA e RNA), aminoácidos e proteínas, além de várias moléculas essenciais à vida, como a clorofila. No entanto, a disponibilidade de N é limitada em muitos solos, particularmente nos trópicos e, embora a atmosfera terrestre consista em 78% de gás nitrogênio (N_2), nenhuma planta ou animal é capaz de utilizar essa forma. Como consequência, a agricultura moderna tem sido altamente dependente de fertilizantes industriais à base de N, o que foi intensificado a partir da década de 1960 com a “Revolução Verde”. O processo Haber-Bosch de síntese de fertilizante nitrogenado, porém, necessita alto consumo de combustíveis fósseis para atingir temperaturas e pressões elevadas, necessárias para quebrar a tripla ligação entre os átomos de N_2 . Além disso, dióxido de carbono (CO_2) é liberado na síntese, transporte e utilização do fertilizante e a eficiência de uso pelas plantas é de apenas 30-60% (Lara-Cabezas; Pádua, 2007; Reetz Jr., 2016), resultando em perdas por lixiviação e emissão de óxidos de nitrogênio (NO_x), como o óxido nitroso (N_2O), que é 292 vezes mais ativo como gás de efeito estufa (GEE) do que CO_2 . Por fim, diversos países importam a maior parte dos fertilizantes nitrogenados consumidos na agricultura, por exemplo, 80% do N no Brasil, criando dependência externa atrelada a moedas estrangeiras. Essas limitações resultam em custos econômicos elevados e problemas ambientais significativos, demandando o desenvolvimento de estratégias para diminuir a dependência em fertilizantes nitrogenados (Hungria; Campo, 2005; Hungria et al., 2007, 2013; de Bruijn, 2015; Reis Junior et al., 2018; Arrese-Igor et al., 2021).

Há bilhões de anos, antes que qualquer vegetal habitasse a Terra, houve um evento na evolução de um procarioto (procariotos são microrganismos unicelulares que não possuem núcleo verdadeiro nem organelas em seu citoplasma), bactéria ou arqueia, que passou a sintetizar uma enzima denominada nitrogenase, que se mantém conservada até os dias de hoje, e é capaz de

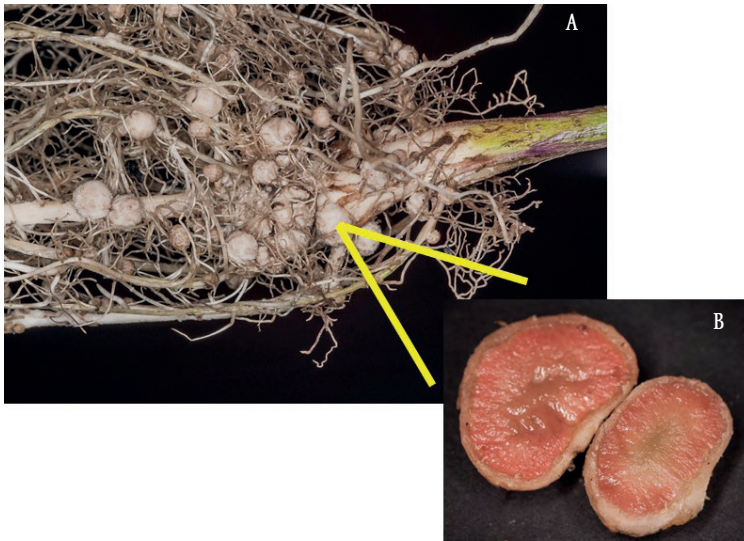
quebrar a tripla ligação do N_2 e transformá-lo em amônia (NH_3), processo denominado como fixação biológica do nitrogênio (FBN), conforme a reação:



O conjunto básico de genes responsáveis pela síntese e atividade da nitrogenase, denominados genes *nif* e *fix*, foi transferido horizontalmente para outros procariotos, que hoje são denominados como diazotróficos (di = dois, azoto = nitrogênio; trófico = relativo à alimentação), estando presente em diversas espécies de bactérias e arqueias, habitando todos os ecossistemas terrestres e os oceanos (Ormeño-Orrillo et al., 2013).

Com o surgimento das plantas, essas bactérias passaram a se associar a elas com diferentes graus de interação, nas proximidades das raízes (rizosféricas), ou em relações mais íntimas (endofíticas). Há cerca de 200 milhões de anos ocorreu um evento de grande relevância, em que algumas dessas bactérias, chamadas coletivamente de rizóbios, passaram a se associar a diversas espécies de plantas da família Fabaceae (sinônimo Leguminosae), popularmente denominadas leguminosas, com grau elevado de interação, estabelecendo uma simbiose. O processo de interação dos rizóbios com as leguminosas engloba uma intensa troca de sinais moleculares e expressão de genes em ambos os parceiros, e que resulta na formação de estruturas típicas principalmente nas raízes, denominadas nódulos (Figura 1), dentro dos quais os rizóbios se diferenciam em uma forma denominada de bacteroide, ficando em compartimentos denominados simbiossomas, onde ocorre o processo de FBN. Na simbiose com leguminosas as bactérias alojadas nos nódulos fornecem o N fixado para a planta hospedeira que, por sua vez, retorna com fontes de carbono destinadas ao suprimento energético dos microssimbiontes. A leghemoglobina, uma hemoproteína responsável pelo fino ajuste das necessidades específicas de oxigênio dos nódulos, representa um marcador visual de que a FBN está ativa, com coloração interna rósea (Figura 1). Mais detalhes sobre a diversidade, a atividade e os habitats de procariotos diazotróficos, bem como sobre o complexo processo de formação e funcionamento dos nódulos em leguminosas podem ser consultados em Hungria et al. (1994), Hungria e Campo (2005), Ormeño-Orrillo et al. (2013), de Bruijn (2015), Reis Junior et al. (2018) e Arrese-Igor et al. (2021).

A simbiose não ocorre em todas as leguminosas, mas é particularmente comum na subfamília Fabaceae, que inclui muitas espécies arbóreas, forrageiras, adubos verdes e culturas de grãos. As estimativas são de que a FBN contribui com cerca de 65% de todo o N reativo introduzido no ciclo do N no planeta, ou 96% da fixação por processos naturais, sendo considerada como o segundo processo biológico mais importante depois da fotossíntese. Se a associação entre estes microrganismos diazotróficos e as plantas for eficiente, o N fixado pode suprir todas as necessidades de diversas espécies de importância econômica e ambiental, dispensando o uso de fertilizantes nitrogenados. No caso da simbiose com leguminosas, são relatados aportes de centenas de kg de N por ha por ciclo (Ormeño-Orrillo et al., 2013). Comparativamente, as principais vantagens e desvantagens da FBN em simbiose em relação ao uso de fertilizantes nitrogenados são apresentadas na Tabela 1. O caso mais bem-sucedido de contribuição da FBN na agricultura, reconhecido internacionalmente, ocorre com a cultura da soja no Brasil (Hungria; Mendes, 2015; Hungria; Nogueira, 2019), resultado de mais de meio século de investimentos em pesquisa, transferência de tecnologia, validação e adoção pelos agricultores.



Fotos: Mariângela Hungria (A) e Marco Antonio Nogueira (B)

Figura 1. Raiz de soja nodulada (A) e corte de nódulo (B), mostrando a coloração rósea interna indicativa de atividade da nitrogenase, pela presença de leghemoglobina funcional.

Tabela 1. Principais vantagens e desvantagens da utilização de fertilizantes nitrogenados e do processo de fixação biológica do N_2 (FBN) em leguminosas.

Vantagens	Desvantagens
Fertilizantes nitrogenados	
<ol style="list-style-type: none"> 1. Disponibilidade imediata para as plantas; 2. Crescimento inicial mais rápido das plantas; 3. Plantas inicialmente mais verdes; 4. Em geral o custo energético para a sua absorção pelas plantas é inferior ao custo da FBN. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Gasto energético elevado para a sua síntese, transporte e utilização; 2. Em condições tropicais, em geral no máximo 50% do fertilizante nitrogenado aplicado é aproveitado pelas plantas; 3. Perdido facilmente por desnitrificação, volatilização, lixiviação; 4. Poluição de águas; 5. Emissão de gases de efeito estufa.
Fixação biológica do N_2	
<ol style="list-style-type: none"> 1. Menor custo para o agricultor; 2. Melhor aproveitamento do N pelas plantas, translocação mais eficiente do N para os grãos; 3. Menores impactos ambientais; 4. Melhoria e manutenção da fertilidade do solo. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Plantas dependentes da FBN podem ter crescimento inicial mais lento, pois há necessidade de formação e início de atividade dos nódulos; 2. As exigências nutricionais das plantas dependentes da fixação do N_2 são mais elevadas, pois precisam atender às suas necessidades, das bactérias e da simbiose; 3. Plantas dependentes da fixação do N_2 são mais sensíveis a estresses abióticos; 4. Estirpes de bactérias fixadoras e genótipos de plantas diferem em sua efetividade e o processo de seleção e melhoramento de ambos parceiros precisa ser contínuo.

Fonte: Modificado de Hungria et al. (1994) e Hungria e Campo (2005).

Histórico da seleção de estirpes para a cultura da soja no Brasil

Conforme comentado, a simbiose resultou de milhões de anos de coevolução entre rizóbios e as respectivas leguminosas hospedeiras. Consequentemente, como a soja não é nativa do Brasil, nossos solos não abrigam naturalmente estirpes compatíveis dessas bactérias de modo que, em áreas de primeiro cultivo,

existe ampla documentação de que a nodulação é zero ou próxima de zero (Hungria et al., 1994), o que também foi confirmado com técnicas mais avançadas de biologia molecular (Ferreira; Hungria, 2002). Frente a isso, estirpes simbiotes da soja foram trazidas do exterior, principalmente de universidades norte-americanas e, posteriormente, da Austrália, para avaliação nas condições edafoclimáticas e com genótipos de soja utilizados no país.

Os primeiros estudos de avaliação de estirpes no Brasil datam da década de 1920, da Seção de Bacteriologia Agrícola do Instituto Agrônomo de Campinas, com estirpes norte-americanas e distribuição de inoculantes para os agricultores, mas a cultura ainda não tinha importância econômica para o país e os trabalhos desaceleraram. Nas décadas de 1950 e 1960, com a expansão da cultura na Região Sul, recomeçaram estudos com estirpes norte-americanas e australianas na Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS, Porto Alegre-RS) e na atual Embrapa Agrobiologia (Seropédica-RJ). Como resultado dessas avaliações, a primeira lista de estirpes recomendadas pelos pesquisadores para o uso em inoculantes comerciais foi publicada em 1956. Decisiva para a história de sucesso da FBN na soja foi a participação dos pesquisadores Prof. Dr. João Ruy Jardim Freire (UFRGS) e Dra. Johanna Döbereiner (Embrapa Agrobiologia) na “Comissão Nacional da Soja” na década de 1960, indicando que a FBN deveria ser um parâmetro considerado nos programas de melhoramento. Graças a esses dois pesquisadores, a seleção de estirpes para a cultura da soja passou a ser prioritária no Brasil (Hungria et al., 1994, 2005; Araujo, 2017).

A primeira estirpe de relevância para a soja brasileira foi a SEMIA 566 (SEMIA, “Seção de Microbiologia Agrícola”, da extinta Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária, Fepagro, RS), isolada em 1966 de um nódulo da cultivar Hardee, em vaso de Leonard que havia recebido inoculante norte-americano, quando se buscava superar problemas de nodulação a campo. A SEMIA 566 foi utilizada em inoculantes comerciais no período de 1966 a 1978 (Hungria et al., 1994, 2005; Hungria; Mendes 2015).

Outra estirpe, a SEMIA 587, foi isolada em 1967, a partir de uma planta de soja em Santa Rosa, RS e provou ser eficiente em diversos ensaios a campo (Freire; Vidor, 1981), sendo utilizada em inoculantes comerciais no período de 1968 a 1975 (Hungria et al., 1994, 2005; Hungria; Mendes, 2015).

Com a expansão da soja para os Cerrados na década de 1970, as estirpes selecionadas na Região Sul não apresentavam bom desempenho, demandando novos estudos. A partir de um nódulo de soja da linhagem IAC-70-559, foi isolada e selecionada a estirpe 29W (=SEMIA 5019) e seu bom desempenho nesse bioma, juntamente com a SEMIA 587, levaram à recomendação dessas duas estirpes em 1979, permanecendo entre as estirpes autorizadas para a produção de inoculantes até a atualidade (Peres; Vidor, 1980; Hungria et al., 1994, 2005, 2006a). Essas duas estirpes estão classificadas na espécie *Bradyrhizobium elkanii*.

Os patamares de rendimento de novas cultivares de soja e o avanço da cultura nos Cerrados incentivaram a busca por estirpes com maior capacidade de FBN, competitivas e adaptadas a condições edafoclimáticas mais restritivas. A partir de uma abordagem criativa, de avaliação da atividade da enzima nitrogenase em nódulos de soja previamente inoculada e passando por período de adaptação nos Cerrados (Peres et al., 1984; Hungria; Vargas, 2000), foram obtidas duas estirpes, atualmente classificadas como *Bradyrhizobium japonicum* CPAC 15 (=SEMIA 5079) e *Bradyrhizobium diazoefficiens* CPAC 7 (=SEMIA

5080) (Vargas et al., 1992; Peres et al., 1993; Hungria; Mendes, 2015). A estirpe CPAC 7 foi obtida a partir de uma subcultura da estirpe CB 1809, por sua vez considerada uma subcultura de USDA 136, que é derivada da USDA 122. As características buscadas na seleção da CPAC 7 foram a maior capacidade competitiva e de nodular a cultivar IAC-2, uma das poucas cultivares disponíveis para o Cerrado à época e maior adaptação aos Cerrados. A estirpe CPAC 15 pertence ao mesmo sorogrupo da SEMIA 566, bastante competitiva, mas apresenta maior capacidade de FBN (Vargas et al., 1992; Peres et al., 1993; Hungria; Vargas, 2000; Hungria et al., 2006a). Essas duas estirpes passaram a ser utilizadas em inoculantes comerciais em 1992 e, passados 30 anos, compõem a grande maioria dos inoculantes utilizados na cultura, certamente sendo fortemente responsáveis pelo sucesso da FBN com a soja brasileira (Hungria et al., 2006a; Hungria; Mendes, 2015). Resultados de dezenas de ensaios compilados desde 1980 (Peres; Vidor, 1980; Peres et al., 1993; Hungria; Campo, 2005; Hungria et al., 2006a, 2007) comprovam a grande eficácia dessas quatro estirpes em todas as regiões produtoras de soja do Brasil e levaram à consolidação da prática de inoculação anual desde 1992 (Figura 2).

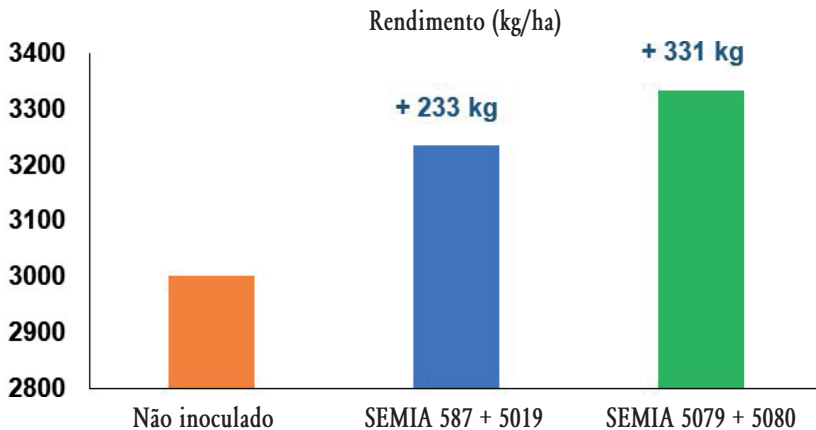


Figura 2. Rendimento médio de grãos obtido em 17 ensaios conduzidos entre 1988 e 2002 nas Regiões Sul e Centro-Oeste, comprovando a eficácia das quatro estirpes comerciais de *Bradyrhizobium* para a cultura da soja e que levaram à consolidação da tecnologia de inoculação com essas estirpes.

Fonte: Adaptado de Hungria et al. (2006a).

Desenvolvimento da indústria de inoculantes e estabelecimento de legislação específica

A história da FBN no Brasil se mescla com a história da cultura da soja e do desenvolvimento de inoculantes (Santos et al., 2019). A necessidade de inocular a soja passou a demandar a produção de inoculantes para atender aos agricultores. Inicialmente, a produção ficou a cargo da Secretaria de Agricultura do Estado do Rio Grande do Sul, em 1949, usando ágar como veículo e, posteriormente, em 1955, em turfa. Em 1956, com o apoio dessa mesma secretaria, as atividades da primeira indústria nacional de inoculantes, a Leivas Leite, se iniciaram em Pelotas-RS. Desde então, o número de empresas produtoras e, posteriormente, importadoras de inoculantes cresceu substancialmente (Hungria; Campo, 2007; Araujo, 2017).

Sem dúvida pode-se afirmar que o sucesso da FBN com a cultura da soja no Brasil também reside na decisão de união de esforços da pesquisa, do setor produtivo privado e do legislativo, trabalhando juntos para garantir os benefícios pelo uso de inoculantes com qualidade e carregando as melhores estirpes identificadas pela pesquisa. Um marco histórico foi a criação, em maio de 1985, da primeira reunião da “Rede de Laboratórios para Recomendação de Estirpes de *Rhizobium*”, denominada RELARE, reunindo a pesquisa, a indústria e o Ministério da Agricultura. Em reuniões que se realizam desde então, em geral bianualmente, foram estabelecidos critérios mínimos de qualidade dos inoculantes, protocolos de pesquisa e para controle de qualidade dos inoculantes, aspectos legais da comercialização, entre outros. A abrangência da RELARE passou a incluir outros microrganismos, resultando na ampliação do nome para “Rede de Laboratórios para Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologia de Inoculantes Microbianos de Interesse Agrícola” em 1998 (Hungria; Campo, 2007; Araujo, 2017). Por sua vez, a maioria das indústrias de inoculantes se uniu na Associação Nacional dos Produtores de Inoculantes (ANPI), criada em 1990, e também ampliada logo em seguida para incluir os importadores de inoculantes, passando à denominação de Associação Nacional dos Produtores e Importadores de Inoculantes (ANPII) (Araujo, 2017; ANPII, 2021).

O controle de qualidade dos inoculantes sempre foi uma preocupação dos pesquisadores que, em 1975, apresentaram uma demanda ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para a fiscalização oficial dos inoculantes, na época à base de turfa, que deveria conter, no mínimo, 10^7 células/g de inoculante (Hungria; Campo, 2007). Desde então, o papel do legislativo tem sido fundamental para garantir a qualidade crescente dos produtos entregues aos agricultores. Em 16 de dezembro de 1980 foi promulgada a Lei Nº 6894, que “Dispõe sobre a inspeção e fiscalização da produção e do comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes, estimulantes ou biofertilizantes, destinados à agricultura”. Como na época somente eram comercializados inoculantes contendo rizóbios, inoculante foi definido como “material que contenha microrganismos fixadores de nitrogênio e que atue favoravelmente no desenvolvimento das plantas”. Essa lei também definiu a obrigatoriedade de registro de todos os produtos, bem como normas para a inspeção e a fiscalização. A Lei Nº 6894 recebeu uma emenda, tornando-se a Lei Nº 6934, publicada em 13 de julho de 1981 e confirmada em Decreto (Nº 4954 de 14 de janeiro de 2004), com a definição de inoculante como “produto que contém microrganismos com atuação favorável ao crescimento de plantas” e na Instrução Normativa (IN) Nº 05, de 06 de agosto de 2004, com dois anexos: Anexo I - Definições e normas sobre especificações, garantias, registro, embalagem e rotulagem dos inoculantes destinados à agricultura; e Anexo II - Relação dos microrganismos autorizados para produção de inoculantes no Brasil (Hungria; Campo, 2017). A Lei Nº 6934 foi regulamentada pelo Decreto Nº 86955 de 18 de fevereiro de 1982, que passou a exigir a concentração de número superior a cem milhões (10^8) de células viáveis de rizóbios/g na indústria e a dez milhões (10^7)/g em inoculantes amostrados no comércio. Também foram estabelecidas multas para produtos comercializados em concentrações inferiores às exigidas. Por sua vez, a relação dos microrganismos foi atualizada na Instrução Normativa Nº 10, de 21 de março de 2006 (Hungria; Campo, 2017).

Norteados pelo princípio de que o sucesso dos microrganismos no campo depende, fundamentalmente, de boas estirpes que sejam fornecidas em produtos de boa qualidade, novos avanços foram introduzidos na

legislação, sempre com amplo respaldo de resultados obtidos pela pesquisa apresentados nas reuniões da RELARE. As atualizações mais recentes constam da Instrução Normativa Nº 13 de 24 de março de 2011, com descrição das especificações, garantias, registro, embalagem e rotulagem dos inoculantes destinados à agricultura (Mapa, 2011). Na IN Nº 13 a concentração mínima de células viáveis de *Bradyrhizobium* em inoculantes é definida em 10^9 unidades formadoras de colônias (UFC)/g ou mL, e que os mesmos devem ser isentos de contaminantes na diluição de 10^5 até a data do vencimento, bem como carregarem somente as estirpes autorizadas pelo Mapa e declaradas no registro/rótulo do inoculante. Para inoculantes com outras bactérias, que agora constam da lista de estirpes recomendadas, é definido que a concentração de células viáveis será a informada no processo de registro do produto, de acordo com a recomendação específica emitida por órgão brasileiro de pesquisa científica oficial ou credenciado pelo Mapa, mas continuam os limites para a presença de contaminantes, bem como a necessidade de confirmar a identidade das estirpes (Mapa, 2011). Todos os inoculantes devem ter validade de, no mínimo, seis meses. A IN Nº 13 também inclui uma atualização dos microrganismos, agora divididos em duas categorias. A primeira, com “microrganismos autorizados” (Anexo II da IN Nº 13), representados por rizóbios, amplamente respaldados por mais de um século de pesquisas e que dispensam testes de eficiência agrônômica para o registro. A segunda lista inclui “microrganismos recomendados” (Anexo III da IN Nº 13), com menor nível de informação científica em território nacional, exigindo testes de eficiência agrônômica para o seu registro; à medida que haja maior respaldo científico, esses microrganismos podem passar para o Anexo II (Mapa, 2011). Atualmente há alguns microrganismos “recomendados” com registro que ainda não estão incluídos no Anexo III da IN Nº 13, como *Pseudomonas fluorescens* e diversas espécies do gênero *Bacillus*.

Tão importante quanto definir critérios, é a necessidade de clareza dos métodos de avaliação da qualidade. Por anos os pesquisadores trabalharam e discutiram na RELARE protocolos para a análise de inoculantes e condução de ensaios de eficiência agrônômica. Após amplas discussões e trabalhos em grupos desde a IX RELARE, os protocolos foram aceitos em plenário na XIII RELARE de 2006 e publicados em 2007 (Campo; Hungria, 2007). Com base nesses protocolos, foram redigidas as instruções normativas do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento descrevendo detalhadamente os métodos oficiais para análise de inoculantes, visando contagem, identificação e análise de pureza (Instrução Normativa Nº 30 de 12 de novembro de 2010). A seguir, foram publicados pelo Mapa, em 25 de março de 2011, como Anexos à Instrução Normativa Nº 13, “protocolos oficiais para avaliação da viabilidade e eficiência agrônômica de cepas, produtos e tecnologias relacionadas a microrganismos promotores de crescimento, a bactérias associativas e ao processo de fixação biológica do nitrogênio em leguminosas” (Mapa, 2010). Posteriormente, foi publicado um adendo, na Instrução Normativa Nº 14, de 13 de abril de 2018, permitindo a extração de DNA para identificação molecular dos microrganismos com kits comerciais e incluindo meio de cultura específico para contagem de *Azospirillum* spp. (Mapa, 2018). Todos esses protocolos detalhados, tanto da RELARE, como das instruções normativas estão disponíveis na internet em endereço incluído na lista de referências deste capítulo.

Certamente a combinação de germoplasma elite desenvolvido pela pesquisa, profissionalização do setor industrial de produção de inoculantes e estabelecimento de legislação garantindo que produtos de

qualidade cheguem ao agricultor formam o tripé que garante o sucesso da FBN e, mais recentemente, dos promotores de crescimento de plantas, com bons resultados no campo. Colhendo bons resultados, o agricultor adota a tecnologia, o que é confirmado pelo crescimento no consumo de inoculantes (Figura 3), em alta concordância com a produção nacional de soja, que cresceu muito mais do que a área cultivada, graças a incrementos na produtividade.

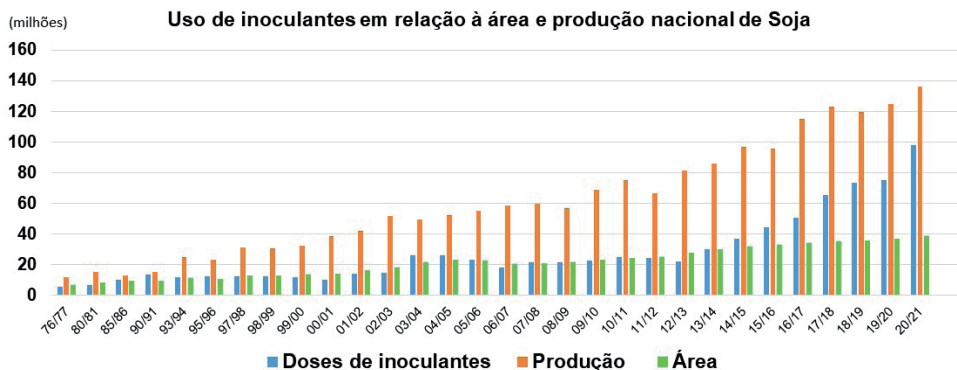


Figura 3. Expansão da comercialização de inoculantes (milhões de doses) em relação à produção de soja (milhões de toneladas) e área (milhões de hectares) cultivada com a cultura no Brasil.

Fonte: Figura construída a partir de dados disponibilizados em Hungria e Campo (2007); Hungria e Nogueira (2019); ANPII (2021); CONAB (2021a) e estimativas de mercado.

Do volume de doses de inoculantes comercializadas na safra 2020/2021, as estimativas são de que 87% são de *Bradyrhizobium* spp. para a cultura da soja e 12,4% de *Azospirillum brasilense*, dos quais mais de 80% também são destinados à soja, em coinoculação com *Bradyrhizobium* spp.

Ontogenia da FBN em soja

Em geral, em condições de campo, desde que haja condições adequadas para haver interação entre a soja e os rizóbios, entre cinco e oito dias após a emergência (DAE) é possível visualizar a formação dos primórdios nodulares. Ao redor de 10 a 12 DAE, caso a simbiose tenha sido bem sucedida, devem ser visualizados de 10 a 12 nódulos de 1 a 2 mm, na parte denominada como “coroa da raiz”, uma região de, aproximadamente, 5-10 cm abaixo dos cotilédones e com 5-10 cm de largura para cada lado (Figura 4A). Logo após a germinação, as plântulas utilizam o N das reservas dos cotilédones e é possível que elas terminem um pouco antes do processo de FBN estar completamente ativo, podendo haver um leve amarelecimento das plantas, mas que desaparece em um a dois dias após a FBN se tornar funcional. No complexo processo de nodulação, os segmentos radiculares são suscetíveis à formação de nódulos por apenas algumas horas durante o seu crescimento. Desse modo, caso um segmento da raiz não seja infectado pelo rizóbio naquele momento, nunca mais um nódulo será formado naquele sítio. Na quase totalidade dos casos, a nodulação na coroa principal está associada à inoculação das sementes com células de rizóbios em número suficiente e fisiologicamente ativas para a nodulação. Em “áreas novas”, ou seja, que não foram cultivadas com soja anteriormente ou há muitos anos, a população de rizóbios

compatíveis é nula ou baixa e não haverá nodulação. Mesmo em “áreas velhas” com populações elevadas devido à inoculação e cultivos anteriores com soja, a nodulação na coroa principal também é rara, visto que as bactérias do solo se encontram latentes e precisam ser reativadas por sinais moleculares da planta hospedeira para iniciar o processo de infecção das raízes. Isso resulta em atraso na nodulação e a formação típica de nódulos na coroa da raiz principal não ocorre (Figura 4B), quando comparada à inoculação com bactérias fisiologicamente prontas para a nodulação que estão presentes no inoculante e que são colocadas juntas às sementes (Figura 4A).

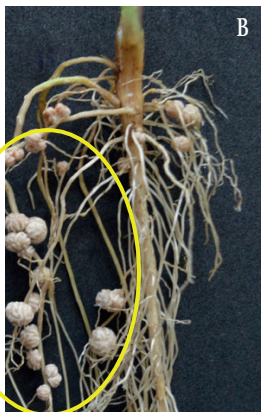
Ao analisar a raiz nodulada, é importante verificar, também, o tamanho dos nódulos, pois é desejável obter um maior número de nódulos com tamanho igual ou superior a 2 mm, que são os que apresentam maior capacidade de FBN. Após as duas primeiras semanas, as etapas de nodulação e de FBN são intensificadas até o florescimento, quando uma planta de soja bem nodulada deve apresentar entre 15 e 30 nódulos por planta. A partir do início do florescimento, com frequência observa-se uma formação secundária de nódulos (Figura 4C) e esses nódulos contribuem, substancialmente, para o fornecimento de N, de modo que as taxas de FBN continuam suficientemente altas para atender às necessidades da planta até o período de enchimento dos grãos. Essa nodulação, que ocorre nas raízes secundárias, em segmentos radiculares mais distantes da coroa da raiz, quase sempre resulta da infecção pelos rizóbios que já estão estabelecidos no solo, por inoculações realizadas em anos anteriores, visto que os rizóbios se locomovem lentamente no solo.

O período entre o início da FBN e o florescimento pleno corresponde às taxas mais elevadas de aporte de N para a cultura da soja (Figura 5). A soja pode, ainda, formar novos nódulos em resposta à inoculação suplementar em estádios de crescimento vegetativo até R1 (início do florescimento), incrementando a contribuição da FBN e o rendimento de grãos, podendo representar uma estratégia interessante para incrementar o aporte de N para as plantas em fases mais avançadas do seu ciclo e que resulte em ganhos de produtividade (Moretti et al., 2018).

No período final de enchimento de grãos os nódulos começam a senescer. Com a leghemoglobina perdendo sua função, observa-se alteração da coloração interna dos nódulos para tons esverdeados ou marrons. A partir desse estágio, o processo preferencial passa a ser o da remobilização de N das folhas, que estava armazenado principalmente na forma de RuBisCo, a enzima mais abundante nas plantas, para as vagens, razão pela qual ocorre o amarelecimento e a senescência das folhas, com início pelas folhas mais velhas do baixeiro, etapa natural e que não deve ser vista com preocupação pelos agricultores. Muito importante destacar que há vários estudos indicando que o N da FBN é mais eficientemente translocado para os grãos do que o N proveniente dos fertilizantes (Neves; Hungria, 1987). Fornecer alguma fonte de N mineral na época em que ocorre a remobilização de N das folhas para as vagens somente implicará no acúmulo de N nas folhas atrasando a senescência das mesmas o que, inclusive, pode dificultar a colheita.

Uma questão frequentemente levantada é se cultivares de tipo de crescimento indeterminado têm maior capacidade de realizar FBN em relação às de crescimento determinado. Pesquisas indicam uma alta sincronia entre a fotossíntese e a FBN, na teoria fonte/dreno, em que maiores taxas fotossintéticas demandariam maiores taxas de FBN (Kaschuk et al., 2010; de Luca et al., 2014). Estudos conduzidos até o momento no Brasil comparando cultivares de tipo de crescimento determinado e indeterminado

(A) Nodulação abundante na coroa principal da raiz, indicando alta eficiência do inoculante



(B) Atraso na nodulação, com falha na coroa principal, com nódulos nas raízes secundárias



(C) Nodulação secundária, ocorrida após o florescimento

Fotos: Mariângela Hungria (A e B) e Marco Antonio Nogueira (C)

Figura 4. Três tipos de padrões de nodulação que podem ser encontrados em raízes de soja.

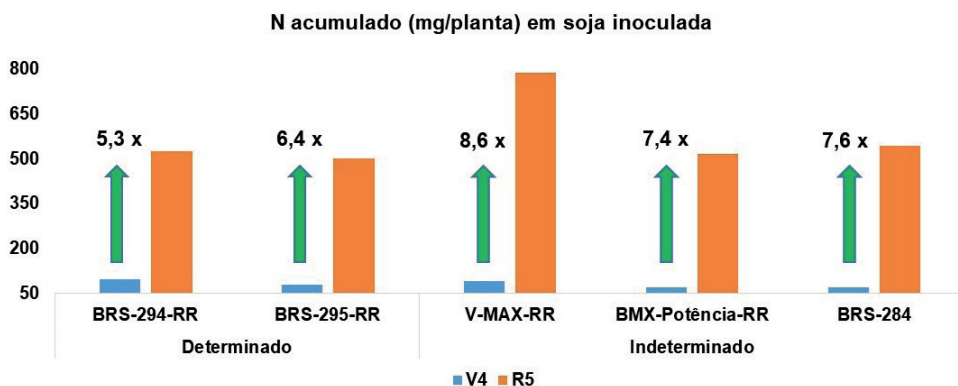


Figura 5. N acumulado na parte aérea em V4 (estádio vegetativo, terceira folha trifoliada completamente desenvolvida) e em R2 (florescimento pleno) em cultivares de soja de tipo de crescimento determinado e indeterminado inoculadas e sem receber N mineral, indicando grande aporte de N proveniente do processo biológico nesse período. Ensaio conduzido na estação experimental da Embrapa Soja, em Londrina, PR. Os dados representam médias de seis repetições.

Fonte: Figura construída a partir de dados disponibilizados em Kaschuk et al. (2016).

indicam que, em geral, ambas são eficientes no processo de FBN (Kaschuk et al., 2016; Saturno et al., 2017) (Figura 5). Vale salientar que a confirmação da teoria fonte:dreno, fotossíntese:FBN em soja nodulada no Brasil (Kaschuk et al., 2010; de Luca et al., 2014) é de grande relevância, pois indica que, enquanto houver fotossíntese, o processo de FBN continuará a suprir N para a planta. De fato, em avaliações durante todo o ciclo (120 dias) da cultivar Embrapa 48, Zotarelli et al. (1999) verificaram contribuição da FBN até o final do ciclo.

O eterno dilema sobre o uso de fertilizante nitrogenado na cultura da soja

Certamente tão antiga quanto a história da FBN com a soja no Brasil, são as dúvidas que surgem quanto à necessidade de complementação das exigências nutricionais da cultura com fertilizantes nitrogenados. Nas décadas de 1970 e 1980 imperava o conceito de uma dose de arranque, ou “dose starter”. Conforme já comentado, a nodulação e o estabelecimento da FBN requerem uma série de etapas complexas que iniciam com a troca de sinais moleculares entre os simbiosites e, pela complexidade, é possível que as reservas de N dos cotilédones terminem um pouco antes de o processo estar ativo, mas as plantas se restabelecem rapidamente da limitação momentânea, conforme comentado no item de ontogenia da FBN em soja. Esses sintomas visuais, mais frequentes quando as condições ambientais na semeadura são estressantes, como no plantio convencional, levou à disseminação equivocada da ideia da necessidade de adubação com até 40 kg/ha de N na semeadura. Contudo, a adubação com fertilizante nitrogenado é antagônica à FBN e a aplicação, nesse estágio de desenvolvimento da planta é crítica, por inibir a infecção das raízes pelos rizóbios no período mais propício para a formação de nódulos. Visando avaliar a necessidade dessa dose inicial de fertilizante, foram conduzidos vários ensaios a campo, particularmente nas décadas de 1980 e 1990, que confirmaram não haver qualquer benefício no rendimento de grãos pela aplicação de 10, 20, 30 ou 40 kg/ha de N na semeadura, nos sistemas de plantio convencional ou direto, na Região Sul e nos Cerrados (Hungria et al., 1994, 1997, 2006b, 2007).

Outra dúvida surgiu sobre a necessidade de suplementação com fertilizantes nitrogenados em estádios reprodutivos da planta, assumindo que a FBN cairia drasticamente após o florescimento. Contudo, isso não foi confirmado para os genótipos brasileiros. Como exemplo, em 40 experimentos conduzidos em Londrina e Ponta Grossa, PR, a aplicação de fertilizante nitrogenado em R2 (florescimento pleno) ou R4 (vagem completamente desenvolvida) prejudicou a atividade dos nódulos que ainda estavam ativos, diminuindo a contribuição da FBN e prejudicando o rendimento de grãos da soja, tanto no sistema plantio direto como no convencional (Hungria et al., 2006b).

Outra demanda por respostas veio em 2013/2014 pelo CESB (Comitê Estratégico Soja Brasil) quanto ao efeito da aplicação de ureia em R5.3 (maioria das vagens entre 25 e 50% de granação máxima), em cobertura ou via foliar. Com base nos resultados de 51 ensaios conduzidos por 16 instituições públicas e privadas em nove estados brasileiros foi concluído que a pesquisa descartava ganhos no uso de adubação nitrogenada no cultivo da soja (Agrolink, 2014). Nesse desafio do CESB, nos ensaios conduzidos pela Embrapa Soja em Ponta Grossa, com uma cultivar de crescimento determinado e outra de crescimento indeterminado, foram obtidos rendimentos de 4.500 a 4.800 kg/ha, sem nenhuma resposta à aplicação de N em cobertura ou via foliar (Saturno et al., 2017).

Considerando apenas os ensaios conduzidos pela Embrapa Soja, mais de 300 nos últimos 30 anos, conclui-se que não há qualquer benefício ou necessidade de suplementação da soja com fertilizantes nitrogenados, caso tenham sido utilizadas boas práticas de inoculação. As avaliações incluem comparações em sistema de plantio direto ou convencional, cultivares precoces ou tardias, convencionais ou transgênicas, de tipo de crescimento determinado ou indeterminado, com fertilizantes nitrogenados aplicados em todos os estádios de crescimento da soja, com diferentes fontes, a lanço, em sulco ou foliar (Hungria et al., 1997, 2006b, 2007; Kaschuk et al., 2016; Saturno et al., 2017; Hungria; Nogueira, 2019). Situações em que há resposta à adubação nitrogenada evidenciam algum fator limitante à FBN, inclusive ausência de boas práticas de inoculação. Conseguir altos rendimentos sem necessidade de complementação com fertilizantes nitrogenados resulta de décadas de investimento em pesquisas e desenvolvimento tecnológico com a cultura. Como exemplo, nos EUA, onde não houve interesse na pesquisa em FBN nas últimas décadas, pois o custo dos fertilizantes nitrogenados não é limitante, têm-se genótipos de plantas e de microrganismos pouco eficientes no processo de FBN, sendo frequentes os relatos de respostas à aplicação de N (Ortez et al., 2019; La Menza et al., 2020).

A importância da inoculação anual da soja

Algumas pesquisas conduzidas com a soja, particularmente nas décadas de 1980 e 1990 nos EUA levaram ao conceito de que, em solos previamente cultivados com soja e que já haviam recebido inoculantes, não seria possível introduzir novas estirpes, ou obter respostas à uma nova inoculação no início de cada safra, dada a impossibilidade de competir com a população estabelecida no solo, ainda que fosse tão baixa quanto 10 células viáveis/g de solo. Essa premissa era aceita no Brasil pois, de fato, em qualquer área de soja que já havia recebido inoculantes anteriormente, sempre era verificada boa nodulação e não se constataavam sintomas de deficiência de N. Essa persistência de rizóbios nodulantes de soja no solo se deve, mais uma vez, à pesquisa brasileira, que sempre preconizou o uso de estirpes competitivas e com alta capacidade de FBN.

Na safra 1992/1993, porém, a Embrapa Soja iniciou uma série de pesquisas para verificar se, de fato, não havia respostas à inoculação anual da soja, mesmo em solos com populações elevadas introduzidas por inoculações anteriores, que chegavam a 1 milhão de células viáveis/g de solo. A análise dos resultados obtidos nos primeiros cinco anos de pesquisa, em ensaios conduzidos nos Cerrados e na Região Sul, indicou incrementos significativos pela inoculação anual (também denominada reinoculação), em média de 4,5% no rendimento de grãos e de 9% no teor de N nos grãos (Hungria et al., 1997). As pesquisas prosseguiram e, em 2006, considerando 29 ensaios, foi constatado incremento médio no rendimento de grãos de 8% (Hungria et al., 2006a). Em geral, maiores respostas à inoculação anual são observadas na Região Centro-Oeste do que na Região Sul, indicando que a inoculação anual é ainda mais relevante sob condições mais sujeitas a estresses edafoclimáticos. Incrementos importantes no teor de N dos grãos também foram confirmados na análise de 13 ensaios, em média de 8,1% na Região Centro-Oeste e de 4,3% na Região Sul (Hungria et al., 2006a). Os benefícios da inoculação anual são relacionados, principalmente, à nodulação inicial e eficiente na coroa da raiz principal (Figura 4A), passando a contribuir com maiores taxas de FBN na fase inicial de crescimento das plantas, que é crítica para garantir bom desempenho até

o final do ciclo. Embora em alguns casos possam não ser constatadas diferenças estatísticas no número e massa de nódulos das plantas, a inoculação anual permite maior atividade da FBN, resultando em ganhos importantes no rendimento e N total dos grãos, enquanto que a aplicação de N-fertilizante resulta em inibição da nodulação sem incrementar esses parâmetros, conforme pode ser visualizado em um ensaio conduzido no Tocantins (Figura 6). Esse resultado pode ser consequência de uma ocupação nodular mais rápida pelas bactérias fisiologicamente mais ativas provenientes do inoculante. Segundo levantamento realizado pela ANPII, na safra 2019/2020 a inoculação da soja foi praticada em 79% da área cultivada no país, com grande percentagem de “áreas velhas”, confirmando a confiança dos agricultores na tecnologia de inoculação anual da soja.

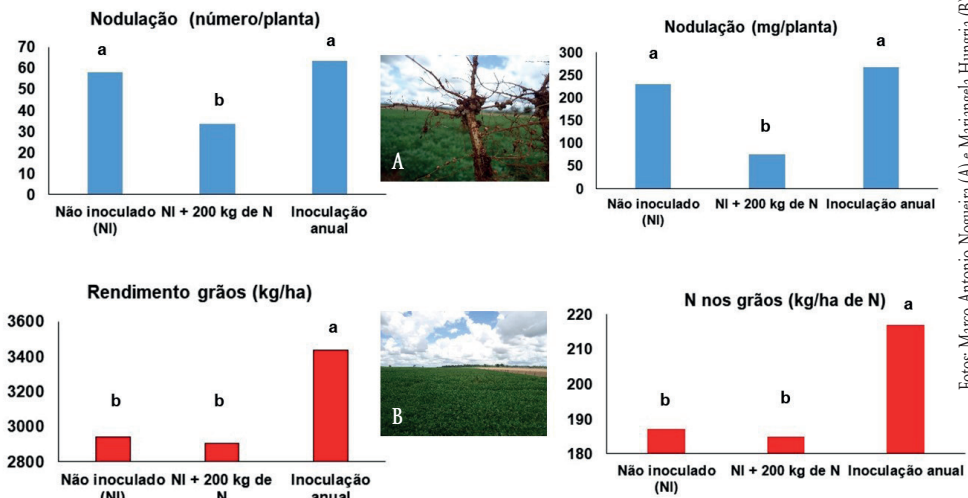


Figura 6. Nodulação avaliada em V5 (quarta folha trifoliada completamente desenvolvida) e rendimento e N total acumulado nos grãos na maturidade fisiológica de soja, cultivar BRS 8980 IPRO, em ensaio conduzido em Aparecida do Rio Negro-TO, em solo com população estabelecida de *Bradyrhizobium* estimada em $4,6 \times 10^5$ células viáveis/g. Os tratamentos corresponderam aos controles não inoculados, sem ou com o aporte de 200 kg/ha de N (100 kg na semente e 100 kg em R1-início do florescimento) e inoculação anual com uma formulação líquida desenvolvida em parceria público-privada com a Embrapa Soja, aportando 1,2 milhões de células/semente. Os dados representam médias de seis repetições e, quando seguidos pela mesma letra, para cada parâmetro, não diferem estatisticamente ($p < 0,05$, Duncan).

Fonte: Figura construída a partir de dados disponibilizados em Hungria et al. (2020).

Coinoculação da soja

Os resultados positivos obtidos com a inoculação anual da soja levaram os agricultores a se interessarem e demandarem outros produtos biológicos (Hungria; Nogueira, 2019). A pesquisa então selecionou estirpes de *Azospirillum brasilense* para as culturas do milho e do trigo (Hungria et al., 2010). O primeiro produto comercial foi lançado em 2009, e duas das estirpes identificadas (Hungria et al., 2010) passaram a ser largamente utilizadas, a Ab-V5 (=CNPSo 2083) e a Ab-V6 (=CNPSo 2084). Em

uma década de pesquisas os benefícios obtidos pela inoculação dessas culturas, em todos os patamares de produção, foram amplamente confirmados, representando um dos casos mais bem-sucedidos de produto biológico desenvolvido e de adoção por agricultores no Brasil (Santos et al., 2021; Barbosa et al., 2022).

O *Bradyrhizobium* da soja e todos os demais rizóbios em simbiose com leguminosas representam a interação com maior grau de coevolução de simbiontes, com alta especialização no processo de FBN e podendo suprir todas as necessidades de N pela planta hospedeira (Ormeño-Orrillo et al., 2013). Já com o *A. brasilense*, que também possui a habilidade de fixar nitrogênio atmosférico, a associação com as plantas ocorre na rizosfera e é menos especializada, conseguindo suprir apenas uma pequena parte das necessidades da planta. Por outro lado, as estirpes de *A. brasilense* selecionadas no Brasil se destacam como fortes produtoras de fitormônios, particularmente ácido indolacético (AIA), com grande capacidade de promoção de crescimento das raízes, incrementando a absorção de água e nutrientes pelas plantas e resultando em melhorias nos aspectos nutricionais e de tolerância a estresse hídrico (Santos et al., 2021).

Mais uma vez, com o sucesso agrônômico verificado com o uso de *A. brasilense* em gramíneas (Santos et al., 2021), os agricultores passaram a relatar incrementos no rendimento da soja que era cultivada em sucessão a essas gramíneas inoculadas com *A. brasilense*. Isso despertou a pesquisa a investigar benefícios residuais, sendo verificado que os processos microbianos do *Bradyrhizobium* spp. e do *A. brasilense* eram distintos e complementares e que os dois microrganismos eram compatíveis, abrindo uma excelente oportunidade para o uso combinado dos mesmos em coinoculação. Estudos em laboratório, casa de vegetação e a campo foram conduzidos e indicaram que, em “áreas velhas”, a inoculação anual resultava em incremento médio no rendimento de grãos de soja de 3,7 sacas/ha ou 8,4%, incrementando para 7,1 sacas/ha ou 16,1% com a coinoculação (Hungria et al., 2013). Incrementos foram observados quando o *Bradyrhizobium* spp. foi inoculado nas sementes e o *A. brasilense* foi aplicado no sulco de semeadura (Hungria et al., 2013), quando ambos foram aplicados nas sementes (Hungria et al., 2015), ou quando ambos foram aplicados no sulco de semeadura (Tabela 2). Cabe comentar que, pela grande capacidade de síntese de AIA pelas estirpes de *A. brasilense* selecionadas, e pelas implicações fisiológicas relacionadas aos fitormônios, aplicações excessivas podem inibir o crescimento das plantas; consequentemente, a dose recomendada é de apenas uma via sementes ou de duas via sulco de semeadura, enquanto que para *Bradyrhizobium* spp. podem ser utilizadas mais doses. A maior tolerância a períodos moderados de seca pela coinoculação também foi confirmada em ensaio a campo com soja coinoculada (Cerezini et al., 2016).

O primeiro produto comercial com registro para coinoculação da soja foi obtido em 2013 (Hungria et al., 2013) e despertou o interesse da comunidade científica. Em 2021, uma meta-análise baseada em 51 publicações científicas com dados de 39 ensaios a campo confirmou estatisticamente os benefícios da coinoculação, com incrementos médios de 11% na massa de raízes, de 5,4% no número e de 10,6% na massa de nódulos e de 3,6% no rendimento de grãos e de 3,2% no teor de N nos grãos, em comparação com a inoculação exclusivamente com *Bradyrhizobium* spp. (Barbosa et al., 2021).

No âmbito de unidades de referência técnica (URT), um programa de difusão da tecnologia aos agricultores foi estabelecido entre a Embrapa Soja e o Instituto Paranaense de Assistência Técnica e Extensão Rural (EMATER), agora Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná (IDR-Paraná). Os dados já consolidados de três safras indicam que foram atendidos 2.226 agricultores, em 130 municípios do

Tabela 2. Ganhos médios no rendimento de grãos de soja pela inoculação anual com *Bradyrhizobium* spp. e pela coinoculação com *Azospirillum brasilense*. Experimentos conduzidos pela Embrapa Soja, em “áreas velhas” com população de rizóbios nodulantes de soja mínima no solo de 10^4 células viáveis/g, com seis repetições. Todos os ganhos foram estatisticamente significativos (Duncan, $p < 0,05$) em relação ao controle não inoculado.

Tratamento	Ganhos médios
Inoculação anual com <i>Bradyrhizobium</i> spp. nas sementes (BSem) ¹	+ 222 kg/ha (+ 8,4%)
Inoculação anual (Bsem) + <i>Azospirillum brasilense</i> no sulco ¹	+ 427 kg/ha (+ 16,1%)
Inoculação anual (BSem)+ <i>A. brasilense</i> nas sementes ²	+ 358 kg/ha (+ 12,8%)
Inoculação anual com <i>Bradyrhizobium</i> spp. no sulco + <i>A. brasilense</i> no sulco ³	+ 405 kg/ha (+ 15,1%)

Fonte: ¹Adaptado de Hungria et al. (2013); ²Adaptado de Hungria et al. (2015); ³Ensaio conduzido pela Embrapa Soja. Compilação realizada por Hungria e Nogueira (2019).

Paraná, nos quais foram estabelecidas 169 URT. Resultados positivos pela coinoculação foram observados em mais de 95% das URT, com ganho médio de 288 kg/ha e benefício econômico de R\$ 345/ha, confirmando o sucesso da tecnologia (Nogueira et al., 2018; Prando et al., 2019, 2020). Em outro estudo em solo dos Cerrados, avaliações com as cultivares Potência e Valiosa resultaram em rendimentos médios de 4.868 e 5.413 kg/ha sem e com coinoculação com *A. brasilense*, respectivamente, um incremento de 545 kg/ha e lucro operacional de R\$ 540/ha (Galindo et al., 2018). Segundo levantamento realizado para a ANPIL, em apenas cinco anos de lançamento a coinoculação já era praticada em 25% da área cultivada com soja no país.

Desafios para garantir o sucesso da FBN na cultura da soja

Existem desafios que precisam ser vencidos para garantir que a história de sucesso da FBN com a soja brasileira tenha continuidade. A nutrição adequada das plantas se torna mais importante do que nunca. Uma planta em simbiose é mais exigente em nutrientes do que outra recebendo N mineral, pois precisa atender às suas demandas, bem como às da bactéria e da simbiose. Alguns nutrientes são particularmente críticos para o desempenho adequado da simbiose. O molibdênio (Mo), por exemplo, é componente da enzima nitrogenase, de modo que a sua deficiência implicará em colapso do processo biológico, razão pela qual induz a sintomas de deficiência de N. O cobalto (Co) participa da formação da cobalamina, precursora da leghemoglobina, cuja importância já foi discutida. Consequentemente, recomenda-se o fornecimento de 2 a 3 g/ha de Co e de 12 a 25 g/ha de Mo via tratamento de sementes ou via foliar entre os estágios V3-V5 (segunda e quarta folhas trifoliadas completamente desenvolvidas) (Seixas et al., 2020). Todos os demais macro e micronutrientes podem limitar as plantas em simbiose, pois desempenham papéis essenciais, por exemplo, o cálcio (Ca) no crescimento das raízes e nódulos, o fósforo (P) no fornecimento de energia para o processo de FBN, etc. Consequentemente, a deficiência de qualquer nutriente implicará em limitação no processo de FBN. Conclui-se que, embora a FBN seja uma tecnologia de baixo custo, ela exige alto conhecimento tecnológico.

Os efeitos deletérios do contato de agrotóxicos e outros insumos químicos no tratamento de sementes sobre a sobrevivência de rizóbios são relatados há décadas (Hungria et al., 2007; Campo et al., 2009; Hungria; Mendes, 2015; Hungria; Nogueira, 2019) e o número de moléculas e formulações utilizadas

para este fim cresce a cada ano. Foram realizadas várias tentativas de compatibilização entre biológicos e químicos utilizados no tratamento de sementes, principalmente fungicidas e inseticidas, com resultados não satisfatórios (Hungria et al., 2007; Campo et al., 2009). O cenário pode ser ainda mais limitante quando são utilizadas sementes pré-inoculadas, também denominada inoculação antecipada, em que o contato das bactérias com os agrotóxicos ocorre por períodos prolongados. Pode haver também incompatibilidade com outros químicos, como micronutrientes e suas diferentes formulações. Atualmente, uma grande variedade de combinações de químicos é utilizada no tratamento de sementes, muitas das quais com consequências desconhecidas sobre a sobrevivência de *Bradyrhizobium* spp. e *A. brasilense* quando aplicados juntos nas sementes. Análises realizadas na Embrapa Soja indicam que, em geral, o máximo período de inoculação antecipada com tratamento químico de sementes, ainda que armazenadas em condições ótimas, raramente é superior a uma semana, garantindo a concentração mínima desejável de células viáveis de *Bradyrhizobium* spp. no momento da semeadura, preconizada pela pesquisa entre 80.000 e 100.000 células por semente. No caso dos micronutrientes Co e Mo, para aliviar o impacto dos químicos sobre as bactérias nas sementes, estudos indicaram que estes micronutrientes podem ser aplicados via foliar, nas mesmas doses recomendadas via sementes, nos estádios de desenvolvimento V3-V5 (Seixas et al., 2020). Outra estratégia para evitar o problema de incompatibilidade entre o inoculante e os agrotóxicos e outros insumos químicos nas sementes consiste na inoculação via sulco de semeadura, o que evita o contato direto das bactérias com os produtos químicos (Campo et al., 2010). Nesse caso, a dose de *Bradyrhizobium* spp. deverá ser aumentada para pelo menos 2,5-3 doses/ha, enquanto que a de *A. brasilense* ficará restrita a 2 doses/ha. A adoção da inoculação no sulco de semeadura vem crescendo a cada ano, estimando-se que já seja adotada em cerca de 20% da área cultivada com soja no Brasil.

Estresses ambientais, como temperaturas elevadas e baixa umidade do solo, os de maior ocorrência nos trópicos, sempre foram reconhecidos como os que mais frequentemente limitam a FBN (Hungria; Vargas, 2000; Dwivedi et al., 2015). Estratégias como a adoção do sistema plantio direto, que diminui as oscilações de temperatura e umidade do solo e a coinoculação com *A. brasilense*, que aumenta o volume radicular e o aproveitamento da água disponível, auxiliam na mitigação desses estresses (Hungria; Vargas, 2000; Cerezini et al., 2016; Hungria; Nogueira, 2019). Contudo, os desafios frente às mudanças climáticas globais são cada vez maiores, dada a sensibilidade da simbiose a esses estresses abióticos.

O desenvolvimento industrial tem sido fundamental para o sucesso da FBN com a cultura da soja no Brasil, com enormes avanços na qualidade dos inoculantes oferecidos aos agricultores. Como exemplo, das 7.000 células/semente citadas por Freire e Vidor (1981) como dose “normal” para inoculantes para a soja, ensaios conduzidos a campo chegaram à recomendação atual, de no mínimo 1,2 milhões de células viáveis a serem inoculadas por semente (Hungria et al., 2017), ou 2,5 milhões de células/semente via sulco de semeadura (Campo et al., 2010), que só podem ser garantidos por inoculantes de qualidade, com alta concentração de células e isentos de contaminantes (Hungria; Campo, 2007). Certamente, sem o desenvolvimento industrial que permite que inoculantes de qualidade cheguem até os agricultores, os benefícios da FBN não seriam verificados. Produzir inoculantes de alta qualidade exige profundos conhecimentos em microbiologia, biotecnologia e bioprocessos. Retrocessos são altamente prováveis caso a produção de inoculantes passe a ser realizada nas propriedades, conhecida como produção *on farm*,

ou produção caseira, em que todas as técnicas para se obter inoculante de alta qualidade em termos de concentração celular, ausência de contaminantes e garantia da presença do microrganismo de interesse não são totalmente aplicadas. Em análises realizadas em amostras de inoculantes produzidos *on farm* com o objetivo de multiplicar *Bradyrhizobium* spp. e *A. brasilense*, os resultados foram alarmantes. Além de os microrganismos alvo não estarem presentes nas amostras foi observada alta contaminação com microrganismos não alvo, muito dos quais com alto potencial patogênico para plantas, animais e humanos, inclusive com resistência a antibióticos (Bocatti et al., 2022). Com isso, pode haver um grande retrocesso em todos os avanços conseguidos na tecnologia de FBN no Brasil no último século (Figura 7).

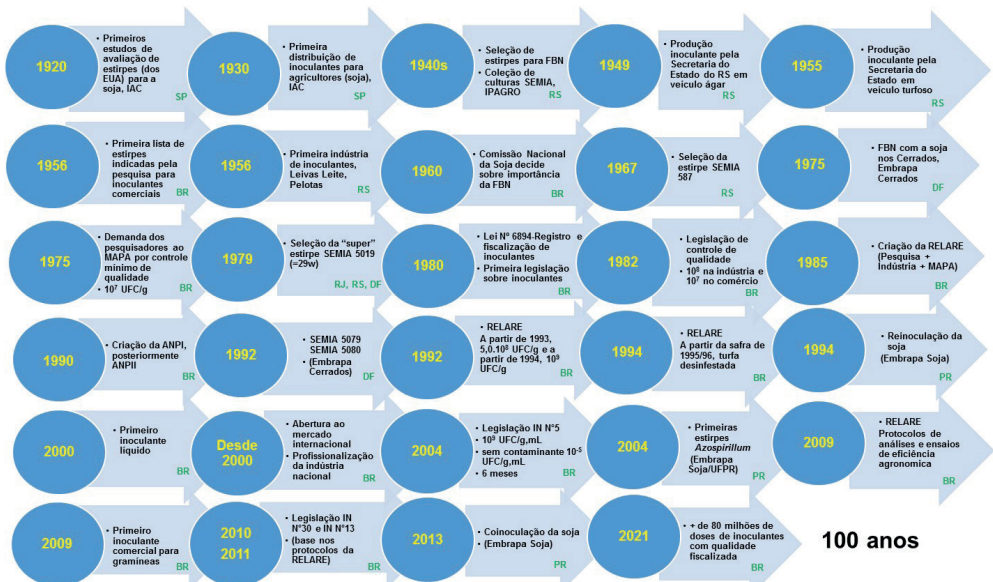


Figura 7. Linha do tempo dos principais eventos relacionados à pesquisa com fixação biológica do nitrogênio, produção de inoculantes e marcos legislativos no Brasil.

Boas práticas de inoculação

Os progressos conseguidos pela pesquisa e o incremento na qualidade dos inoculantes não promoverão os incrementos esperados no campo caso não sejam adotadas boas práticas de inoculação. Os principais pontos a serem considerados são: 1) Verificar se o produto tem registro no Mapa para a finalidade desejada, se está dentro do prazo de validade, se foi transportado e armazenado em condições adequadas (protegido do sol, em temperaturas abaixo de 30 °C e ambiente ventilado); cuidados com temperaturas elevadas devem continuar durante a semeadura; 2) Seguir a recomendação técnica do produto registrado, confirmando se segue a recomendação técnica da pesquisa; 3) No caso de inoculante turfoso, usar solução açucarada a 10% para aderência às sementes e, no caso do inoculante líquido, além de utilizar a dose adequada para fornecer a concentração teórica mínima de células por semente (1,2 milhões), não utilizar volume inferior a 100 mL/50 kg, garantindo a distribuição homogênea nas sementes; 4) O volume total

de líquidos adicionados às sementes, considerando inoculantes, agrotóxicos e outros insumos químicos, não deve ultrapassar 300 mL/50 kg; no caso de sementes com alta qualidade fisiológica (alta germinação e, principalmente, alto vigor), podem ser aplicados até 550 mL/50 kg; 5) Caso seja necessário o tratamento de sementes com agrotóxicos e outros produtos químicos, esses devem ser aplicados primeiro, deixar secar e aplicar o inoculante em uma segunda operação; 6) A inoculação pode ser feita em tambor rotatório, betoneira ou em máquinas específicas para o tratamento de sementes; o procedimento deve ser feito à sombra, deixando 20-30 minutos para secagem. Os inoculantes não devem ser aplicados diretamente na caixa semeadora e nunca devem ser misturados com os agrotóxicos e outros insumos químicos, no popular “sopão”; 7) Maior sucesso é obtido quando é fornecida alta concentração de células e a semeadura é realizada no mesmo dia da inoculação, especialmente se a semente for tratada com agrotóxicos e outros produtos químicos; em caso de dúvida quanto à sobrevivência das bactérias, repetir a operação de inoculação; 8) Para *Bradyrhizobium* spp. não há limitação para o número de doses a serem aplicadas, salvo o volume de líquido tolerado pelas sementes; contudo, para outros microrganismos, verificar os resultados das pesquisas quanto à compatibilidade com *Bradyrhizobium* spp. e a recomendação do fabricante; 9) Evitar semear em condições estressantes, como a semeadura “no pó”, pois além de prejudicar a sobrevivência das bactérias inoculadas, também prejudica o vigor das sementes; 10) A inoculação no sulco é uma tecnologia consolidada que pode ser utilizada para evitar o contato da bactéria com agroquímicos ou biológicos incompatíveis nas sementes, mas deve ser aplicada, no mínimo, uma dose equivalente a 2,5 milhões de células/semente; 11) No caso de sementes pré-inoculadas devem ser garantidas no mínimo 80 mil a 100 mil células viáveis/semente no momento da semeadura; 12) Métodos alternativos de inoculação das sementes, como pulverização na superfície do solo ou foliar, devem ser adotados somente em caso de emergência, de forma complementar, em caso de falha da nodulação, mas não substituem a aplicação via sementes ou sulco de semeadura; nesse caso, a aplicação deve ser feita com solo úmido e no final da tarde; 13) Todas as outras recomendações de boas práticas para a cultura, como nutrição, práticas culturais, devem ser seguidas rigorosamente, para garantir o sucesso da FBN.

Benefícios econômicos e ambientais da FBN

Com frequência são divulgados números indicando o quanto a FBN com a soja representa em termos econômicos e ambientais para o Brasil. Essas estimativas são importantes para valorizar o investimento em pesquisa, como ferramenta para indicar sustentabilidade agrícola e com potencial de uso em negociações como créditos de carbono. Uma breve explicação sobre os cálculos foi dada por Hungria e Mendes (2015). O roteiro dos cálculos que resultam nos números divulgados pela Embrapa Soja é exposto a seguir, permitindo a atualização a cada safra e pode servir como modelo para estimativas com outras culturas e microrganismos.

Em média, para cada 1.000 kg de grãos de soja são necessários 78 kg de N, dos quais 54 kg são exportados pelos grãos e 24 kg permanecem nos restos culturais (Seixas et al., 2020). Considerando a produtividade média nacional de 3.529 kg/ha na safra 2020/21 (Conab, 2021a), a demanda de N seria de 275 kg/ha. Os solos brasileiros raramente fornecem mais de 20 kg/ha de N por safra, reduzindo essa necessidade para 255 kg/ha de N. A eficiência do uso do fertilizante nitrogenado pelas plantas é baixa,

estimada em 30 a 50% (Reetz Jr., 2016) e de 45 a 60,7% (Lara-Cabezas; Pádua, 2007), este último em estudo realizado no Brasil. Assumindo um valor de eficiência de 50%, chega-se à estimativa de uma demanda de 510 kg/ha de N, para que os 255 kg/ha sejam aproveitados pela planta. Considerando-se a taxa de câmbio de US\$ 1 = R\$ 5,4759 em janeiro de 2021, com um custo de US\$ 0,91 por kg de N (janeiro de 2021) para a ureia, a principal fonte de N utilizada no país (CONAB, 2021b), o custo do N-fertilizante necessário para a cultura da soja seria de US\$ 462/ha. Em comparação, considerando-se os preços em 2020, o custo médio do inoculante seria de US\$ 0,86/ha (Conab, 2021b). Portanto, nos 38,526 milhões de ha cultivados com soja em 2020/2021 (Conab, 2021a), tem-se a extraordinária economia de US\$ 17,88 bilhões. Cabe comentar que o ano de 2021 apresentou grande oscilação na taxa de câmbio. Para esses cálculos, foi utilizada a cotação de janeiro de 2021; contudo, em julho, em alguns estados o preço da ureia já era até 80% superior ao de janeiro (Conab, 2021b). Em relação ao impacto ambiental, as estimativas médias do IPCC (2006) indicam que 1 kg de N-fertilizante corresponde à emissão de, aproximadamente, 10,5 kg de equivalentes de CO₂, dos quais 4,5 kg são relacionados à síntese e cerca de 6 kg ao transporte, à aplicação e às perdas como N₂O. Com base nesses números, a FBN com a cultura da soja evitou, na safra 2020/2021, a emissão de 206 milhões de toneladas de equivalentes de CO₂ para a atmosfera pelo não uso de N-fertilizantes. Além disso, a FBN diminuiu o impacto causado pela lixiviação de nitrato proveniente dos fertilizantes, grande fonte de poluição da água (Coskun et al., 2017). Esses benefícios econômicos e ambientais resultam em ganhos sociais, melhorando não só a qualidade de vida dos agricultores, mas também de toda a sociedade.

Considerações finais

As pesquisas, validações e desenvolvimento tecnológico com a FBN na cultura da soja completaram mais de 100 anos no Brasil (Figura 7). O país é, atualmente, o líder mundial em contribuição da FBN na agricultura, liderança que foi conquistada com a cultura da soja. Essa posição de destaque foi conseguida com muito trabalho e união entre a pesquisa, o setor privado e o legislativo, tripé que é e deve continuar a ser responsável pela continuidade dessa história de sucesso. O enfraquecimento em qualquer um desses três pilares pode levar à perda de todos os benefícios conseguidos com tantos esforços. Um retorno à sociedade e ao meio ambiente estimado em mais de US\$ 17 bilhões e mitigação de mais de 200 milhões de toneladas de equivalentes de CO₂ representa um modelo de sustentabilidade agrícola no Brasil. Essa história de sucesso somente terá continuidade com o aporte de recursos para a pesquisa pública, a melhoria contínua de qualidade dos inoculantes e o respaldo legislativo garantido que o agricultor colherá em sua propriedade os resultados da pesquisa e dos avanços em bioprocessos.

Agradecimentos

Os pesquisadores da Embrapa Soja são bolsistas de pesquisa do CNPq e membros do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia (INCT) “Microrganismos Promotores do Crescimento de Plantas Visando à Sustentabilidade Agrícola e à Responsabilidade Ambiental”, MPCPAgro (CNPq 465133/2014-4, Fundação Araucária-STI 043/2019, CAPES).

Referências

- AGROLINK. CESB: pesquisa descarta ganho no uso de adubação nitrogenada no cultivo da soja. 2014. Disponível em: <https://www.agrolink.com.br/noticias/cesb-pesquisa-descarta-ganho-no-uso-de-adubacao-nitrogenada-no-cultivo-da-soja_190048.html>. Acesso em: 30 ago. 2021.
- ANPII. Associação Nacional dos Produtores e Importadores de Inoculantes. Disponível em: <http://www.anpii.org.br/>>. Acesso em: 30 ago. 2021.
- ARAUJO, S. C. *Caminhos, escolhas e conquistas*. s.l.: ANPII, 2017. 138 p.
- ARRESE-IGOR, C.; HUNGRIA, M.; BONILLA, I. Fixação biológica do nitrogênio. In: MARTINEZ, H. E. P.; LUCENA, J. J.; BONILLA, I. (Eds.). **Relações solo-planta**: bases para a nutrição e produção vegetal. Viçosa: Ed. UFV, 2021. p. 107-127.
- BARBOSA, J. Z.; HUNGRIA, M.; SENA, J. V. S.; POGGERE, G.; REIS, A. R.; CORRÊA, R. S. Meta-analysis reveals benefits of co-inoculation of soybean with *Azospirillum brasilense* and *Bradyrhizobium* spp. in Brazil. **Applied Soil Ecology**, v. 163, p. 103913, 2021. DOI: 10.1016/j.apsoil.2021.103913
- BARBOSA, J. Z.; ROBERTO, L. A.; HUNGRIA, M. CORRÊA, R. S.; MAGRI, E.; CORREIA, T. D. Meta-analysis of maize responses to *Azospirillum brasilense* inoculation in Brazil: Benefits and lessons to improve inoculation efficiency. **Applied Soil Ecology**, v. 170, p. 104276, 2022. DOI: 10.1016/j.apsoil.2021.104276
- BOCATTI, C. R.; FERREIRA, E.; RIBEIRO, R. A.; CHUEIRE, L. M. O.; DELAMUTA, J. R. M.; KOBAYASHI, R. K. T.; HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A. Microbiological quality analysis of inoculants based on *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense* produced "on farm" reveals high contamination with non-target microorganisms. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 54, p. 267-280, 2022. DOI: 10.1007/s42770-021-00649-2
- CAMPO, R. J.; HUNGRIA, M. (orgs.). In: REUNIÃO DA REDE DE LABORATÓRIOS PARA RECOMENDAÇÃO, PADRONIZAÇÃO E DIFUSÃO DE TECNOLOGIA DE INOCULANTES MICROBIANOS DE INTERESSE AGRÍCOLA, 13, Londrina, 2006. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 2007. 212 p. (Embrapa Soja. Documentos, 290).
- CAMPO, R. J.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Nitrogen fixation with the soybean crop in Brazil: compatibility between seed treatment with fungicides and bradyrhizobial inoculants. **Symbiosis**, v. 48, p. 154-163, 2009. DOI: 10.1007/BF03179994
- CAMPO, R. J.; ARAUJO, R. S.; MOSTASSO, F. L.; HUNGRIA, M. In-furrow inoculation of soybeans as alternative for fungicides and micronutrients seed treatment and inoculation. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, p. 1103-1112, 2010. DOI: 10.1590/S0100-06832010000400010
- CEREZINI, P.; KUWANO, B.; SANTOS, M.; TERASSI, F.; HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A. Strategies to promote early nodulation in soybean under drought. **Field Crops Research**, v. 196, p.1 60-167, 2016. DOI: 10.1016/j.fcr.2016.06.017
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Séries históricas** - soja. 2021a. Disponível em: www.conab.gov.br/info-agro/safras/serie-historica-das-safras/item/7666-soja/. Acesso em 30 ago. 2021.
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Insumos agropecuários**. 2021b. Disponível em: www.consultaweb.conab.gov.br/consultas/consultaInsumo.do?method=acaoCarregarConsulta. Acesso em 30 ago. 2021.
- COSKUN, D.; BRITTO, D.; SHI, W.; KRONZUCKER, H. J., Nitrogen transformations in modern agriculture and the role of biological nitrification inhibition. **Nature Plants**, v. 3, p. 17074, 2017. DOI:10.1038/nplants.2017.74
- DE BRUIJN, F. J. (Ed.). **Biological nitrogen fixation**. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2015. 1196 p. DOI: 10.1002/9781119053095
- DE LUCA, M. J.; HUNGRIA, M. Plant densities and modulation of symbiotic nitrogen fixation in soybean. **Scientia Agricola**, v. 71, p. 181-187, 2014. DOI: 10.1590/S0103-90162014000300002
- DWIVEDI, S. L.; SAHRAWAT, K. L.; UPADHYAYA, H. D.; MENGONI, A.; GALARDINI, M.; BAZZICALUPO, M.; BIONDI, E. G.; HUNGRIA, M.; KASCHUK, G.; BLAIR, M. W.; ORTIZ, R. Advances in host plant and *Rhizobium* genomics to enhance symbiotic nitrogen fixation in grain legumes. In: SPARKS, D.L. (Ed.). **Advances in Agronomy - book series**. v. 129, p. 1-116. Elsevier Inc., Academic Press, 2015. DOI: 10.1016/bs.agron.2014.09.001
- FERREIRA, M. C.; HUNGRIA, M. Recovery of soybean inoculant strains from uncropped soils in Brazil. **Field Crops Research**, v. 79, p. 139-152, 2002. DOI:10.1016/S0378-4290(02)00119-3
- FREIRE, J. R. J.; VIDOR, C. Rizobiologia. Estudos no Estado do Rio Grande do Sul. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J. C. (Eds.). *A soja no Brasil*. Campinas: ITAL, 1981. p. 417-425.
- GALINDO, F. S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; BUZETTI, S.; LUDKIEWICZ, M. G. Z.; ROSA, P. A. L.; TRITAPEPE, C. A. Technical and economic viability of co-inoculation with *Azospirillum brasilense* in soybean cultivars in the Cerrado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 22, p. 51-56, 2018. DOI: 10.1590/1807-1929/agriambi.v22n1p51-56

- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J. Fixação biológica do nitrogênio em sistemas agrícolas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 30., 2005, Pernambuco. **Anais...** Pernambuco: SBCS, UFPE; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2005. p.1-30. CD-ROM.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J. Inoculantes microbianos: situação no Brasil. In: IZAGUIRRE-MAYORAL, M.L.; LABANDERA, C.; SANJUAN, J. (Ed.). **Biofertilizantes em Iberoamérica: visión técnica, científica y empresarial**. Montevideo: Cyted/Biofag, 2007. p.22-31.
- HUNGRIA, M.; MENDES, I. C. Nitrogen fixation with soybean: the perfect symbiosis? In: DE BRUIJN, F.J. (Ed.). **Biological nitrogen fixation**. v. 2. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2015. p. 1009-1023. DOI: 10.1002/9781119053095.ch99
- HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A. Tecnologias de inoculação da cultura da soja: Mitos, verdades e desafios. In: **Boletim de Pesquisa n. 19, 2019/2020**. Rondonópolis: Fundação MT, 2019. p. 50-62. (Fundação MT. Boletim, 19).
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T. Environmental factors impacting N_2 fixation in legumes grown in the tropics, with an emphasis on Brazil. **Field Crops Research**, v. 65, p. 151-164, 2000. DOI: 10.1016/s0378-4290(99)00084-2
- HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S.; SILVA JÚNIOR, E. B.; ZILLI, J. E. Inoculum rate effects on the soybean symbiosis in new or old fields under tropical conditions. **Agronomy Journal**, v. 109, p. 1106-1112, 2017. DOI: 10.2134/agronj2016.11.0641
- HUNGRIA, M.; BARCELLOS, F. G.; MENDES, I. C.; CHUEIRE, L. M. O.; BATISTA, J. S. S.; MENNA, P. Introdução, estabelecimento e adaptação de bradirrízobios simbiotes da soja em solos brasileiros. In: YAMADA-OGATTA, S. F.; NAKAZATO, G.; FURLANETO, M. C.; NOGUEIRA, M. A. (Orgs.). **Tópicos especiais em microbiologia**. Londrina: UEL, 2015. p. 243-261.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro**. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 80 p. (Embrapa Soja. Documentos, 283)
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C.; GRAHAM, P. H. Contribution of biological nitrogen fixation to the N nutrition of grain crops in the tropics: the success of soybean (*Glycine max* L. Merr.) in South America. In: SINGH, R. P.; SHANKAR, N.; JAIWAL, P. K. (Eds.). **Nitrogen nutrition and sustainable plant productivity**. Houston: Studium Press, LLC, 2006a. p. 43-93.
- HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; CAMPO, R. J.; CRISPINO, C. C.; MORAES, J. Z.; SIBALDELLI, R. N. R.; MENDES, I. C.; ARIHARA, J. Nitrogen nutrition of soybean in Brazil: contributions of biological N_2 fixation and of N fertilizer to grain yield. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 86, n. 4, p. 927-939, 2006b. DOI: 10.4141/P05-098
- HUNGRIA, M.; MENDES, I. C.; MERCANTE, F. M. **A fixação biológica do nitrogênio como tecnologia de baixa emissão de carbono: avaliação nas culturas do feijoeiro e da soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2013. 22 p. (Embrapa Soja. Documentos, 337)
- HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. **Biology and Fertility of Soils**, v. 49, p. 791-801, 2013. DOI: 10.1007/s00374-012-0771-5
- HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Soybean seed co-inoculation with *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense*: A new biotechnological tool to improve yield and sustainability. **American Journal of Plant Sciences**, v. 6, p. 811-817, 2015. DOI: 10.4236/ajps.2015.66087
- HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; CAMPOS, L. J. M.; MENNA, P.; BRANDI, F.; RAMOS, Y. G. Seed pre-inoculation with *Bradyrhizobium* as time-optimizing option for large-scale soybean cropping systems. **Agronomy Journal**, v. 112, p. 5222-5236, 2020. DOI: 10.1002/agj2.20392
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T.; CAMPO, R. J. 1997. **A inoculação da soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1997. 28 p. (EMBRAPA-CNPSo. Circular Técnica, 17. EMBRAPA-CPAC. Circular Técnica, 34)
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T.; SUHET, A. R.; PERES, J. R. R. Fixação biológica do nitrogênio em soja. In: ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. (Eds.). **Microorganismos de importância agrícola**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. p. 9-89.
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). **IPCC guidelines for National greenhouse gas inventories**. Disponível em www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/2006gl/. Acesso em: 30 ago. 2021.
- KASCHUK, G.; HUNGRIA, M.; LEFFELAAR, P. A.; GILLER, K. E.; KUYPER, T. W. Differences in photosynthetic behaviour and leaf senescence of soybean (*Glycine max* [L.] Merrill) dependent on N_2 fixation or nitrate supply. **Plant Biology**, v. 12, p. 60-69, 2010. DOI: 10.1111/j.1438-8677.2009.00211.x
- KASCHUK, G.; NOGUEIRA, M. A.; DE LUCA, M. J.; HUNGRIA, M. Response of determinate and indeterminate soybean cultivars to basal and topdressing N fertilization compared to sole inoculation with *Bradyrhizobium*. **Field Crops Research**, v. 195, p. 21-27, 2016. DOI: 10.1016/j.fcr.2016.05.010
- LA MENZA, N. C.; MONZON, J. P.; LINDQUIST, J. L.; ARKEBAUER, T. J.; KNOPS, J. M. H.; UNKOVICH, M.; SPECHT, J. E.; GRASSINI, P. Insufficient nitrogen supply from symbiotic fixation reduces seasonal crop growth and nitrogen mobilization to seed in highly productive soybean crops. **Plant, Cell & Environment**, v. 43, p. 1958-1972, 2020. DOI: 10.1111/pce.13804

LARA-CABEZAS, W. A. R.; PADUA, R. V. Eficiência e distribuição de nitrogênio aplicado em cobertura na cultura de milho consorciada com *Brachiaria ruziziensis*, cultivada no sistema Santa Fé. **Bragantia**, v. 66, p. 131-140, 2007. DOI: 10.1590/S0006-87052007000100016

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **INSTRUÇÃO NORMATIVA N° 30**, de 12 de novembro de 2010. 2010. Disponível em: www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/fertilizantes/legislacao/in-30-2010-dou-17-11-10-metodo-inoculantes.pdf/view. Acesso em 30 ago. 2021.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **INSTRUÇÃO NORMATIVA N° 13**, de 24 de março de 2011. 2011. Disponível em: www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/fertilizantes/legislacao/in-sda-13-de-24-03-2011-inoculantes.pdf/view. Acesso em 30 ago. 2021.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **INSTRUÇÃO NORMATIVA N° 14**, de 13 de abril de 2018. 2018. Disponível em: www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/laboratorios/legislacoes-e-metodos/fertilizantes-substratos/InstruoNormativan14_2018.pdf/view. Acesso em 30 ago. 2021.

MORETTI, L. G.; LAZARINI, E.; BOSSOLANI, J. W.; PARENTE, T. L.; CAIONI, S.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Can additional inoculations increase soybean nodulation and grain yield? **Agronomy Journal**, v. 110, p. 715-721, 2018. DOI: 10.2134/agronj2017.09.0540

NEVES, M. C. P.; HUNGRIA, M. The physiology of nitrogen fixation in tropical grain legumes. **CRC Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 6, p. 267-321, 1987. DOI: 10.1080/07352688709382252

NOGUEIRA, M. A.; PRANDO, A. M.; OLIVEIRA, A. B.; LIMA, D.; CONTE, O.; HARGER, N.; OLIVEIRA, F. T.; HUNGRIA, M. **Ações de transferência de tecnologia em inoculação/coinoculação com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* na cultura da soja na safra 2017/18 no estado do Paraná**. Londrina: Embrapa Soja, 2018. 15 p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 143)

ORMEÑO-ORRILLO, E.; HUNGRIA, M.; MARTINEZ-ROMERO, E. Dinitrogen-fixing prokaryotes. In: ROSENBERG, E.; DELONG, E. F.; LORY, S.; STACKEBRANDT, E.; THOMPSON, F. (Eds.). **The Prokaryotes**. Berlin and Heidelberg: Springer-Verlag, 2013. p. 427-451. DOI: 10.1007/978-3-642-30141-4_72

ORTEZ, O. A.; TAMAGNO, S.; SALVAGIOTTI, F.; PRASAD, P. V. V.; CIAMPITTI, I. A. Soybean nitrogen sources and demand during seed-filling period. **Agronomy Journal**, v. 111, p. 1779-1787, 2019. DOI: 10.2134/agronj2018.10.0656

PERES, J. R. R.; VIDOR, C. Seleção de estirpes de *Rhizobium japonicum* e competitividade por sítios de infecção nodular em cultivares de soja. **Agronomia Sul Riograndense**, v. 16, p. 205-219, 1980.

PERES, J. R. R.; MENDES, I. C.; SUHET, A. R.; VARGAS, M. A. T. Eficiência e competitividade de estirpes de rizóbio para a soja em solos de Cerrados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 17, p. 357-363, 1993.

PERES, J. R. R.; VARGAS, M. A. T.; SUHET, A. R. Variabilidade na eficiência de fixar nitrogênio entre isolados de uma mesma estirpe de *Rhizobium japonicum*. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 8, p. 193-196, 1984.

PRANDO, A. M.; OLIVEIRA, A. B.; LIMA, D.; POSSAMAI, E. J.; REIS, E. A.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M.; CONTE, O. **Coinoculação da soja com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* na safra 2019/2020 no Paraná**. 21 p. Londrina: Embrapa Soja, 2020. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 166)

PRANDO, A. M.; OLIVEIRA, A. B.; LIMA, D.; POSSAMAI, E. J.; REIS, E. A.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M.; HARGER, N.; CONTE, O. **Coinoculação da soja com *Bradyrhizobium* e *Azospirillum* na safra 2018/2019 no Paraná**. 19 p. Londrina: Embrapa Soja, 2019. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 156)

REETZ JR., H. F. 2016. **Fertilizers and their efficient use**. Paris: International Fertilizer Use Association, 2016. 110 p.

REIS JUNIOR, F. B.; MENDES, I. C.; HUNGRIA, M. Fixação biológica de nitrogênio: fundamentos e aplicações. In: AZEVEDO, J. L.; PAMPHILE, J. A.; QUECINE-VERDI, M. C.; LACAVA, P. T. (Orgs.). **Biotecnologia microbiana ambiental**. Maringá: EDUEM, 2018. p.125-152.

SANTOS, M. S.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Microbial inoculants: Reviewing the past, discussing the present and previewing an outstanding future for the use of beneficial bacteria in agriculture. **AMB Express**, v. 9, p. 205, 2019. DOI: 10.1186/s13568-019-0932-0

SANTOS, M. S.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Outstanding impact of *Azospirillum brasilense* strains Ab-V5 and Ab-V6 on the Brazilian agriculture: Lessons that farmers are receptive to adopt new microbial inoculants. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 45, e.0200128, 2021. DOI: 10.36783/18069657rbcS20200128

SATURNO, D. F.; CEREZINI, P.; SILVA, P. M.; OLIVEIRA, A. B.; OLIVEIRA, M. C. N.; HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A. Mineral N impairment of biological N₂ fixation in soybean: growth types matters? **Journal of Plant Nutrition**, v. 40, p. 1690-1701, 2017. DOI: 10.1080/01904167.2017.1310890

SEIXAS, C. D. S.; NEUMAIER, N.; BALBINOT JUNIOR, A. A.; KRZYZANOWSKI, F. C.; LEITE, R. M. V. B. C. (Eds.). **Tecnologias de produção de soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2020. 347 p. (Embrapa Soja. Sistemas de Produção, 17)

ZOTARELLI, L.; TORRES, E.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M.; ALVES, B. J. R. **Efeito da sucessão soja/trigo no balanço de N em sistema de plantio direto e convencional**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 1999. 17 p. (Embrapa Agrobiologia. Comunicado Técnico, 29)

Microrganismos solubilizadores de fósforo e potássio na cultura da soja

Christiane Abreu de Oliveira-Paiva

Vera Maria Carvalho Alves

Eliane Aparecida Gomes

Sylvia Morais de Sousa

Ubiraci Gomes de Paula Lana

Ivanildo Evódio Marriel

Introdução

O Brasil é o País com o maior potencial de expansão da agricultura no globo, devendo se tornar, nos próximos cinco anos, o maior exportador de grãos do planeta, superando os Estados Unidos. Nossa agricultura alimentou em 2020 quase 800 milhões de pessoas e, enquanto a produção de grãos mundial cresceu 2,05% ao ano, entre 2011 e 2020, a do Brasil cresceu 5,33%, mais do dobro da taxa mundial (Contini; Aragão, 2020). Apesar disso, os sistemas de produção agrícola brasileiros são continuamente afetados pela baixa fertilidade dos solos, levando ao uso intensivo de fertilizantes químicos sintéticos, que elevam os custos de produção em termos econômicos e ambientais, além de promover a dependência da importação de insumos. Para suprir a demanda nacional do agronegócio por nutrientes, o País importa, em média, 70% dos fertilizantes nitrogenados e fosfatados e acima de 95% dos fertilizantes potássicos (Associação Nacional para Difusão de Adubos, 2019; GlobalFert, 2021), sendo o quarto maior consumidor global de fertilizantes, atrás apenas da China, da Índia e dos Estados Unidos.

O fósforo (P) é um dos nutrientes mais limitantes para o crescimento das plantas e sua deficiência pode causar atraso no crescimento e interferir nos processos de fotossíntese, respiração, armazenamento e transferência de energia, divisão celular e crescimento das células vegetais (Hammond; White, 2008). Em soja, além de essencial para o metabolismo energético, também contribui para a nodulação e consequente fixação do nitrogênio (N) atmosférico. Por impactar diferentes processos vitais, o P torna-se necessário desde a germinação, principalmente em plantas de ciclo curto, como a soja. Nos solos brasileiros, a maior parte do P encontra-se imobilizado nas formas insolúveis de fosfatos de cálcio (Ca), ferro (Fe) e alumínio (Al) ou fortemente adsorvido a argilominerais (Novais; Smyth, 1999). Estima-se que cerca de 70% do P aplicado via fertilizantes minerais ou orgânicos permanece acumulado no solo em formas pouco acessíveis às plantas (Pavinato et al., 2020).

Terceiro macronutriente essencial, o K é absorvido pelas plantas e translocado como cátion. Caracterizado pela sua alta mobilidade nas plantas, não tem função estrutural nem participa da composição, mas desempenha funções importantes em diversos processos do crescimento de plantas, como controle de

atividade enzimática em vários processos fisiológicos e metabólicos da planta, incluindo fotossíntese (Wang et al., 2012); metabolismo do nitrogênio e síntese de proteínas e de carboidratos (Prajapati; Modi, 2012); regulação de estômatos (Hedrich, 2012) e tolerância à seca (Grzebisz et al., 2013); produção e translocação de carboidratos para áreas de crescimento meristemático (Sattar et al., 2019); processos de transporte nos tecidos vasculares (Dreyer et al., 2017) e crescimento e desenvolvimento geral da planta (Sparks; Huang, 1985); resistência a pragas e doenças; dentre outros. É o oitavo elemento mais abundante na terra, compreendendo por volta de 2,1% da crosta terrestre (Sattar et al., 2019). Entretanto, deste total, quase 98% está presente na forma não trocável, indisponível para as plantas (minerais silicáticos como mica e feldspato), sendo frequente a deficiência de K, principalmente em sistemas de produção intensificados.

Uma abordagem estratégica para o manejo integrado de fertilizantes consiste na possibilidade de maximizar a absorção e liberação de P e K do solo pelo uso de microrganismos que promovam o crescimento do sistema radicular das plantas e a disponibilização de formas solúveis desses nutrientes.

Microrganismos promotores de crescimento de plantas são capazes de estimular o crescimento vegetal em diferentes estágios de desenvolvimento por meio de mecanismos diretos como a aquisição de P e K, a fixação de N ou ainda modulando níveis de hormônios vegetais, que podem levar ao aumento da superfície radicular e ao maior crescimento vegetativo (Backer et al., 2018; Nazir et al., 2018; Bakhshandeh et al., 2020; Sousa et al., 2021) (Figura 1). Por outro lado, os mecanismos indiretos envolvem a redução ou prevenção de efeitos deletérios de microrganismos patogênicos pela síntese de antibióticos ou sideróforos (Rodríguez; Fraga, 1999; Sharma et al., 2013) (Figura 1). O uso de inoculantes microbianos solubilizadores de P e K ganhou destaque nas últimas três décadas, com vários produtos comerciais no mercado mundial (Tabela 1). Porém, atualmente, não existe no Brasil nenhum inoculante comercial para solubilização de K. Para o nutriente P, existem comercialmente no Brasil os produtos BiomaPhos, Biofree e Pasto Max.

Neste contexto, este capítulo abordará os principais mecanismos utilizados por microrganismos promotores de crescimento de plantas para disponibilização de P e K no solo e seus impactos, especialmente na cultura da soja.

Aumento da aquisição de P em soja por microrganismos solubilizadores de fosfato (MSP)

O P é um nutriente limitante para o crescimento das plantas, pois, apesar de o P total da maioria dos solos ser relativamente elevado, o P disponível para as plantas é muito baixo, principalmente em solos tropicais intemperizados. Encontra-se nos solos sob as formas orgânicas (Po) e inorgânicas (Pi), que se diferenciam entre si pelo grau de estabilidade ou solubilidade e, portanto, com diferentes disponibilidades à absorção vegetal. O Pi ocorre principalmente em complexos minerais insolúveis e precipitados (Rengel; Marschner, 2005), enquanto a matéria orgânica representa entre 20-80% do Po dos solos (Richardson, 1994). Existem principalmente dois tipos de reações de fixação de íons fosfato nos solos: (a) sorção de fosfato na superfície dos minerais de argila e (b) precipitação de fosfato por Al^{3+} , Fe^{3+} e Ca^{2+} livres no solo (Havlin et al., 1999). Os solos que apresentam maior capacidade de fixação de P ocupam cerca de 1 bilhão de hectares nos trópicos (Sanchez; Logan, 1992). Em geral, apenas 0,1% do P total do solo existe em uma forma solúvel, prontamente disponível para absorção imediata pelas plantas (Zhou et al., 1992).

Tabela 1. Inoculantes comerciais para solubilização de fosfato e potássio disponíveis no mercado mundial.

Nome do produto	Fabricante	País	Benefício/Mecanismo	Microorganismo	Recomendação	Referência
Bio Promotor Phosphobacteria	-	Índia	Solubilização de fosfato	<i>Bacillus megaterium</i>	Trigo, milho, arroz e algodão	indiamart.com/romvijaybiotech/phosphobacteria-biofertilizer.html
BiomaPhos	Bioma/Simbiose	Brasil	Solubilização/mineralização de fosfato	<i>B. megaterium</i> , <i>B. subtilis</i>	Diferentes culturas	bioma.ind.br/product/bioma-phos
Bio-Phospho	Special Biochem (P) Ltd	Índia	Solubilização de fosfato	<i>B. subtilis</i>	Trigo, milho, arroz e algodão	indiamart.com/proddetail/bio-phospho-bio-fertilizer-7618252062.html
Biozote-P	National Agriculture Research Center	Paquistão	Solubilização de fosfato	Microorganismos solubilizadores de fosfato	Leguminosas	-
CataPult	Mapleton Agri Biotec	Austrália	Solubilização de fosfato e absorção de nutrientes	Fungos micorrízicos e <i>Bacillus</i>	Diferentes culturas	mabiotec.com/index.php
Fasloon ka jarasimi teeka	Ayyub Agricultural Research Institute (AARI)	Paquistão	Solubilização de fosfato	Microorganismos solubilizadores de fosfato	Leguminosas, trigo, milho, arroz e algodão	aari.punjab.gov.pk
JumpStart Technology	Bayer		Aumento da disponibilidade de fosfato	<i>Penicillium bilaiae</i>	Trigo	cropscience.bayer.us/seedgrowth/acceleron/other-solutions/jumpstart-wettable-powder-inoculant
N P K liquid	-	Índia	Fixação de nitrogênio, solubilização de fosfato e potássio	<i>Azotobacter chroococcum</i> , <i>Pseudomonas</i>	Diferentes culturas	-
Phosphomax	Varsha Bioscience and Technology India Private Ltd	Índia	Solubilização de fosfato	<i>B. megaterium</i>	Diferentes culturas	varshabioscience.com/products/phosphomax.html
Potash solubilizing liquid	-	Índia	Solubilização de potássio	Espécies de <i>Bacillus</i>	Diferentes culturas	-
Potassium solubilizing bacteria	Vidarbha Biotech Lab"	Índia	Solubilização de potássio	N/D		vbl-biofarming.com/product/k-all-k-m-b/
PotaZ	Varsha Bioscience and Technology India Private Ltd	Índia	Solubilização de potássio	<i>Frateuria aurantia</i>	Diferentes culturas	varshabioscience.com/products/potaz.html
QuickRoots Technology	Bayer	EUA	Aumenta a disponibilidade de nitrogênio, fósforo e potássio	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> e <i>Trichoderma</i>	Milho, trigo, algodão e sorgo	cropscience.bayer.us/seedgrowth/acceleron/other-solutions/quick-roots-technology
Symbion K	T. Stanes & Company Limited	Índia	Solubilização de potássio	<i>Frateuria</i> sp.	Diferentes culturas	tstanes.com/
TagTeam	Bayer	EUA	Solubilização de fosfato e fixação de nitrogênio	<i>Penicillium bilaiae</i> e <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	Soja, lentilha e ervilha	cropscience.bayer.us/seedgrowth/acceleron/other-solutions/tag-team-technology

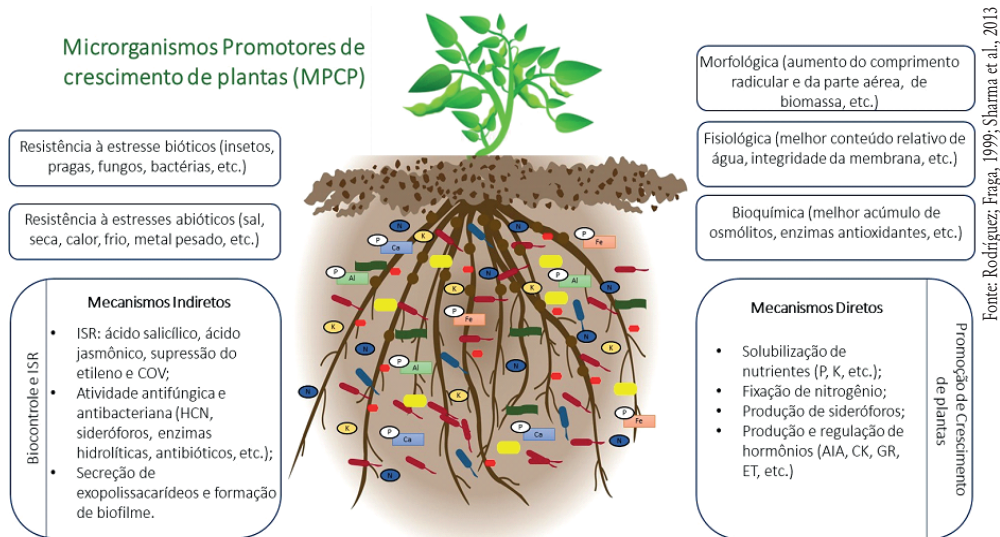


Figura 1. Principais mecanismos diretos e indiretos de microrganismos promotores de crescimento de plantas.

Por esta razão, o P precisa ser suplementado na maioria dos solos agrícolas pela adição de fertilizantes químicos sintéticos. Por outro lado, estima-se que uma grande proporção do P adicionado ao solo e não removido pelas culturas (>70%) permanece no solo em formas não disponíveis para as plantas (Pavinato et al., 2020). Assim, torna-se importante implementar estratégias ambientalmente sustentáveis e economicamente viáveis para aumentar a disponibilidade deste nutriente para as plantas, como o uso de inoculantes microbianos.

Os compostos insolúveis de P no solo podem ser solubilizados por ácidos orgânicos, fosfatases e agentes quelantes produzidos por plantas e microrganismos. Bactérias solubilizadoras de fosfato (BSP) e espécies fúngicas podem aumentar a solubilização de compostos fosfatados insolúveis (Son et al., 2006). Considerando a população microbiana do solo, BSP normalmente compreendem entre 1% e 50%, enquanto os fungos solubilizadores de fosfato (FSP) abrangem entre 0,1% e 0,5% da população total (Chen et al., 2006), com destaque para bactérias dos gêneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azotobacter* e *Burkholderia*, além de fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* (Oliveira-Paiva et al., 2009; Gomes et al., 2014; Etesami; Maheshwari, 2018; Kalayu, 2019). Os fungos entomopatogênicos *Beauveria* e *Metarhizium*, além de serem utilizados como biopesticidas são também importantes como biofertilizantes para promoção do crescimento de plantas, abrindo possibilidades para seu uso multifuncional (Kowalska et al., 2020). O aumento no crescimento da planta mediado pelos fungos entomopatogênicos pode resultar da supressão das pragas na planta (Jaber, 2015) ou de uma combinação de redução da severidade da doença e desenvolvimento mais vigoroso das plantas como observado com cepas de *Beauveria* e *Metarhizium* (Sasan e Bidochka, 2013; Jaber e Salem, 2014). Exemplos com fungos entomopatogênicos incluem o significativo aumento na produção de cebola depois da aplicação de *Metarhizium anisopliae* (Maniania et al., 2003) ou o crescimento de plântulas de soja (Khan et al., 2012), milho (Liao et al., 2014) ou algodão (Lopez e

Sword, 2015) depois da inoculação com diferentes espécies de fungos entomopatogênicos. Mecanismos de promoção do crescimento relacionados com a transferência de nitrogênio (Behie et al., 2012), a produção de sideróforos (Jirakkakul et al., 2015) ou o aumento na absorção de ferro (Sánchez-Rodríguez et al., 2015) já foram relatados em plantas colonizadas com *B. bassiana*. Além disso, foi observada a produção do fitormônio ácido indol acético (AIA) associada com diferentes cepas de *Metarhizium* e *Beauveria* (Liao et al., 2017). Esses organismos são ubíquos, mas variam em densidade e capacidade de solubilização de fosfato mineral em diferentes tipos de solo ou sistemas de produção. São geralmente isolados de solos, rizosfera, rizoplano, filosfera e rochas, dentre outros, utilizando o método de diluição seriada ou a técnica de enriquecimento da cultura (Zaidi et al., 2009).

Os microrganismos desempenham um papel importante em todos os três componentes principais do ciclo de P do solo (dissolução-precipitação, sorção-dessorção e mineralização-imobilização). Os principais mecanismos de solubilização de P empregados pelos microrganismos incluem: (1) liberação de ácidos orgânicos, sideróforos, prótons, íons hidroxila, CO_2 ; (2) liberação de enzimas extracelulares (mineralização bioquímica de P) e (3) liberação de P durante a degradação do substrato (mineralização biológica de P) (McGill; Cole, 1981). Além disso, esses microrganismos, na presença de carbono lábil, servem como dreno para o P, imobilizando-o rapidamente, mesmo em solos com baixo teor de P (Sharma et al., 2013).

A inoculação com MSP tem sido realizada em soja, desde a década de 50 (Kudashev, 1956), em diferentes regiões do globo (Wasule et al., 2007; Fernández et al., 2007; Afzal et al., 2010; Wang et al., 2020; Bononi et al., 2020), com aumento significativo na produtividade. Por exemplo, nove estirpes de BSP dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* foram isoladas da rizosfera de soja consorciada na China e apresentaram alta capacidade de secretar ácidos orgânicos, solubilizar P, produzir AIA e sideróforos e promover crescimento das plantas de soja (Wang et al., 2020). A inoculação de duas cepas de *B. aryabhattai* isoladas na Índia, com capacidade para mineralizar fitato e solubilizar fosfato tricálcico, resultou em aumento significativo dos parâmetros de crescimento, rendimento, aquisição de P de soja e o teor de P disponível no solo (Ramesh et al., 2015).

Efeitos positivos foram observados na inoculação consorciada ou isolada de *Bradyrhizobium* e *Pseudomonas* na produtividade da soja no Paquistão (Afzal et al., 2010). As estirpes bacterianas foram capazes de produzir os fitormônios AIA e ácido giberélico. A eficiência de sobrevivência de *Bradyrhizobium* foi até 46% maior por causa da coinoculação, em comparação com sua inoculação simples. Por outro lado, a eficiência de sobrevivência de *Pseudomonas* foi até 33% maior em comparação com sua inoculação simples. Os resultados mostraram que a coinoculação das estirpes de *Bradyrhizobium* e *Pseudomonas* resultou em aumento no rendimento de grãos de 38% em experimentos com vasos e 12% no experimento de campo, em comparação com o tratamento não inoculado. Além disso, foi observado um aumento no número de vagens, conteúdo de N e P nas sementes e disponível no solo, em comparação com o controle, indicando o papel positivo desses microrganismos na mobilização de nutrientes e produtividade da soja.

Plantas de soja inoculadas com estirpes selecionadas do fungo *Trichoderma*, isoladas da Floresta Amazônica, foram cultivadas em solo em casa de vegetação sob um gradiente de fosfato de rocha e superfosfato triplo (Bononi et al., 2020). Das cepas isoladas de *Trichoderma*, 19,5% foram capazes de solubilizar o fosfato e produziram diferentes ácidos orgânicos durante o processo de solubilização. Além

disso, a inoculação com as estirpes de *Trichoderma* mostraram respostas positivas de até 41% na promoção do crescimento da soja, assim como um aumento de até 141% na eficiência de aquisição de P. Já a inoculação com uma cepa de *B. subtilis* aumentou o peso seco da raiz, a relação raiz: parte aérea, o número de nódulos e a nodulação específica, além de contribuir para o maior teor de clorofila de plantas de soja crescidas em condições controladas. Além disso, *B. subtilis* modificou a partição de assimilados na soja, levando ao aumento da superfície radicular de raízes intermediárias e da biomassa da raiz (Araújo et al., 2021).

Isolados bacterianos endofíticos de soja das espécies *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Chryseobacterium*, *Citrobacter*, *Curtobacterium*, *Enterobacter*, *Methylobacterium*, *Microbacterium*, *Micromonospora*, *Pantoea*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Ochrobactrum*, *Streptomyces* e *Tsukamurella* apresentaram potencial biotecnológico, sendo que 18% dos isolados controlaram o crescimento de fungos fitopatogênicos, 100% produziram AIA e 39% solubilizaram fosfato. Um isolado da espécie *Enterobacter* aumentou significativamente a massa de matéria seca da raiz da soja. No entanto, a inoculação de isolados com elevado potencial biotecnológico, em avaliações *in vitro*, não promoveu o crescimento de plantas de soja na maioria dos casos (Assumpção et al., 2009). Fernández et al. (2007) também observaram disparidade dos resultados *in vitro* e na planta. Plantas inoculadas com *Burkholderia* apresentaram a maior altura da parte aérea e mostraram uma relação N/P adequada. No entanto, nenhuma das BSP aumentou a absorção de P pelas plantas. Nesses casos, os resultados sugerem que a inoculação de BSP não promoveu necessariamente a nutrição de P na soja, nem houve qualquer relação entre a disponibilidade de P no ensaio *in vitro* e o teor de P na parte aérea da soja, nas condições avaliadas em casa de vegetação (Fernández et al., 2007). Esses resultados indicam que a seleção de cepas de BSP eficientes como possíveis inoculantes para solos deficientes em P deve se concentrar na interpretação integral de ensaios *in vitro*, experimentos em casa de vegetação e ensaios de campo em diversos anos e locais (Raymond et al., 2021).

Uso de inoculante contendo microrganismos solubilizadores de fosfato na cultura da soja

A equipe da Embrapa Milho e Sorgo vem pesquisando e selecionando MSP há quase 20 anos (Oliveira-Paiva et al., 2009; Gomes et al., 2014; Sousa et al., 2021; Velloso et al., 2020).

O inoculante contém as estirpes *Bacillus subtilis* (CNPMS B2084) e *B. megaterium* (CNPMS B119), BSP capazes de aumentar a eficiência do uso de P para as plantas, o que pode resultar no aumento da produtividade e, no futuro, na utilização de menores doses de fertilizantes fosfatados. Estas duas estirpes foram isoladas de áreas agrícolas distintas no País, onde prevalece o cultivo de cereais (Oliveira-Paiva et al., 2009; Abreu et al., 2017). A estirpe de *B. megaterium* (CNPMS B119) foi isolada da rizosfera de milho, e tem capacidade de solubilizar fosfatos de cálcio e de rocha e produzir fosfatase, enquanto a estirpe de *B. subtilis* (CNPMS B2084) é endofítica, solubiliza fosfatos de cálcio e ferro, apresenta alta produção de ácido glucônico e enzima fitase (Abreu et al., 2017; Oliveira-Paiva et al., 2020b). Além disso, estas estirpes possuem propriedades distintas de promoção de crescimento, como a produção de AIA, sideróforos, exopolissacarídeos e formação de biofilme que estimulam o aumento da superfície radicular, especialmente de raízes mais finas (Sousa et al., 2021; Velloso et al., 2020). Bactérias do gênero *Bacillus* possuem ainda a capacidade de formar endósporos, permitindo que

se adaptem a condições abióticas extremas, como temperatura, pH, radiação, dessecação, luz ultravioleta ou exposição a pesticidas (Bahadir et al., 2018).

O inoculante BiomaPhos® foi indicado inicialmente para milho, no entanto, para fins de recomendação agrícola e expansão de seu uso, diversos experimentos foram realizados para avaliar sua eficiência na cultura da soja, o que resultou no registro no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) para esta cultura em 2021. Um exemplo dos resultados da inoculação do BiomaPhos® na cultura da soja e na promoção do crescimento das raízes dessa cultura pode ser visualizado na Figura 2. A inoculação com BiomaPhos® em sementes de soja na dose de 100 mL.ha⁻¹ foi realizada em 181 unidades de observação localizadas em diferentes regiões produtoras do Brasil nas safras 2018/2019 e 2019/2020 (Tabela 2). Os resultados demonstraram que em todos os locais, a produção foi maior na área inoculada com o bioproduto. Considerando todos os locais de avaliação, o ganho médio variou de 0,3% a 18,5%, com média de 6,3%. Os ganhos variaram de 0,1 a 11,5 sacas/ha, com média de 4,3 sacas/ha. Quando analisamos os dados por estado, o maior ganho médio foi registrado em Goiás (10%), e o menor, em Santa Catarina (2,8%). O maior ganho, em sacas/ha, foi registrado no Paraná (5,3 sc/ha), e o menor, em Santa Catarina (2,2 sc/ha). Na grande maioria dos locais avaliados (175) o ganho com a inoculação da soja foi maior que o custo de aplicação. O custo médio da aplicação do inoculante foi 0,7 sc/ha de soja, de modo que o ganho com a inoculação do BiomaPhos® em soja foi, em média, igual a seis vezes o custo da aplicação (Oliveira-Paiva et al., 2020b).

Em outro experimento em Lavras-MG, realizado em parceria com a Embrapa Milho e Sorgo na safra 2018/2019, a inoculação do BiomaPhos® na dosagem de 100 mL.ha⁻¹ no sulco de semeadura da soja promoveu maior enchimento de grãos e produção de massa seca da parte aérea e sistema radicular das plantas. As maiores produtividades da cultura foram obtidas sob a aplicação da dose cheia do fertilizante fosfatado em conjunto com a utilização do inoculante via sulco de semeadura e tratamento de sementes, com ênfase para a aplicação de 100 mL.ha⁻¹ do BiomaPhos® no sulco (Figura 3).

Tabela 2. Ganho médio (%), amplitude do ganho (%), ganho médio (sc/ha), amplitude de ganho (sc/ha), custo por saca (R\$/sc) e custo de aplicação (sc/ha) do inoculante BiomaPhos® na cultura da soja, em unidades de observação conduzidas nas safras 2018/2019 e 2019/2020 em diferentes estados do Brasil.

Estado	N*	Ganho médio (%)	Amplitude ganho (%)	Ganho médio (sc/ha**)	Amplitude ganho (sc/ha)	Custo por saca R\$/sc	Custo de aplicação (sc/ha)
GO	26	10	1,6-13,2	4,5	1,1-9,0	102,2	0,7
MS	14	4,7	1,5-8,8	2,9	1,0-5,2	104,9	0,7
MT	48	5,4	0,3-14,7	3,5	0,2-9,2	104,1	0,7
MG	31	6,3	0,1-18,5	4,4	0,1-11,5	104,4	0,7
PR	55	7,5	1,2-16,7	5,3	1,1-11,1	99,7	0,7
RS	5	5,5	3,7-8,9	3,5	2,4-5,5	104,7	0,7
SC	2	2,8	2,2-3,4	2,2	2,2-2,2	102,2	0,7
Brasil	181	6,3	0,3-18,5	4,3	0,1-11,5	102,9	0,7

*Número de pontos avaliados em áreas de lavoura comercial de 20 ha. **Saca de 60 Kg. Extraído de Oliveira-Paiva et al. (2020b).

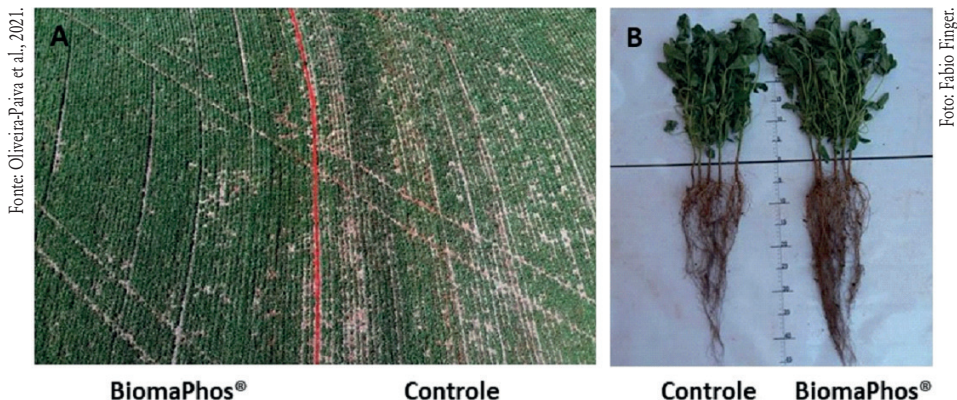


Figura 2. A) Área plantada de soja com e sem inoculação com BiomaPhos[®] sob pivô central em Cascavel-PR na safra 2019. B) Plantas de soja da zona rural de São Luiz do Oeste-PR na safra 2019.

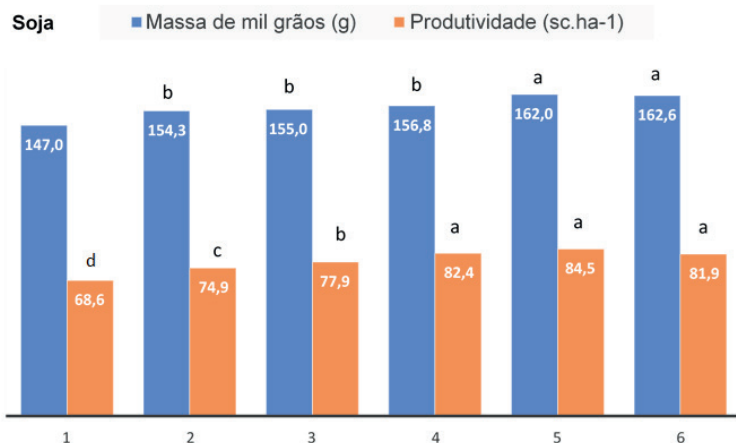


Figura 3. Produtividade da soja em função do tratamento utilizado na safra 2018/2019 em Lavras-MG. Tratamentos: 1. Superfosfato triplo (ST) 50%; 2. ST 100%; 3. ST 50% + BiomaPhos (2 mL.kg⁻¹ de semente); 4. ST 100% + BiomaPhos (2 mL.kg⁻¹ de semente); 5. ST 100% + BiomaPhos no sulco (100 mL.ha⁻¹); 6. ST 100% + BiomaPhos no sulco (150 mL.ha⁻¹). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ($p < 0,05$).

O produto BiomaPhos[®] foi também avaliado para fins de registro no Mapa, por Hungria e Nogueira (Embrapa Soja)¹, nas localidades de Guapirama-PR e Lutécia-SP, em doses que variaram entre 1 e 4 mL.kg⁻¹ de sementes de soja, com 50% da recomendação da adubação fosfatada (superfosfato triplo), além dos controles sem inoculação com 0%, 50% e 100% da adubação fosfatada recomendada para a cultura na safra 2019/2020. Alterações nos teores e acúmulos de P na parte aérea foram observadas em Guapirama, onde a dose de 1 mL.kg⁻¹ de sementes e 50% da adubação fosfatada resultaram nos maiores valores. A inoculação com BiomaPhos[®] e 50% da dose de P resultou em aumento na quantidade total de

¹Dados não publicados (2020).

P acumulada nos grãos, que foi equivalente à adubação com 100% de P sem o bioproduto. Em Lutécia, a inoculação com BiomaPhos® na dose de 1 mL.kg⁻¹ de sementes e 50% da adubação fosfatada resultou em produtividade de grãos superior à do controle, com 100% da dose de P sem inoculação.

Pesquisas conduzidas pela equipe de pesquisadores da Embrapa Soja, resultaram no lançamento do inoculante contendo na mesma formulação os microrganismos *Azospirillum brasilense* (Ab-V6) e *Pseudomonas fluorescens* (cepa CNPSO 2719), com ações de fixação de Nitrogênio, Mobilização de Fósforo e promoção de crescimento de plantas, sendo registrado para as culturas da soja e do milho. Adicionalmente, o microrganismo *Pseudomonas fluorescens* (cepa CNPSO 2719) em formulação isolada foi registrado para a mobilização de P para as culturas do milho e da Brachiaria (*Urochloa ruziziensis*), demonstrando, uma possibilidade na gestão no nutriente P no solo em rotação de culturas, bem como, quando associados a cultura de cobertura. Ressaltando também, o benefício na visão do sistema de produção, como por exemplo, na integração Lavoura-Pecuária.

Aumento da aquisição de K em culturas produtoras de grãos por microrganismos solubilizadores de K

O K é o segundo nutriente mais absorvido pela cultura da soja. A quantidade média acumulada pela parte aérea de plantas de soja para uma produtividade média de 3,4 t/ha de grãos é de 165 kg/ha de K, com uma exportação pelos grãos de 61 kg/ha (37%) (Oliveira Júnior et al., 2020).

Zörb et al. (2014) classificam o K do solo em quatro grupos, dependendo de sua disponibilidade para as plantas: a) Solúvel em água: é o K na solução do solo, sendo prontamente disponível para as plantas e microrganismos e potencialmente sujeito à lixiviação. É mantido principalmente pelo K-trocável, em um rápido equilíbrio; b) K-trocável: é o K adsorvido na superfície dos argilominerais e da matéria orgânica do solo. Estas duas primeiras formas correspondem apenas a 0,1% a 0,2% e 1% a 2% do K total do solo, respectivamente; c) K-não trocável e d) K-estrutural. As duas últimas formas são consideradas lentamente disponíveis ou não disponíveis para as plantas, contribuindo para o suprimento de K em longo prazo.

As principais fontes para produção de fertilizantes são os sais solúveis de K encontrados em depósitos de evaporitos, que são de pequena ocorrência no território nacional (Cara et al., 2012). Apesar da escassez de jazidas de K tradicionais, existem reservas de minerais primários com teores relativamente elevados de K, encontradas em quase todas as regiões do País. Diversas rochas portadoras de K de ocorrência no território nacional vêm sendo estudadas como opção para o fornecimento do nutriente às plantas ou em rotas alternativas de obtenção de fertilizantes, com destaque para carnalita, biotita, leucita, nefelina sienita, mica xisto, feldspato potássico, clorita xisto, muscovita e verdete (Martins et al., 2010). Entretanto, por serem de dissolução lenta e complexa, sua utilização depende de diversos fatores como granulometria, composição química e mineralógica da rocha, além do pH e da atividade biológica do solo (Dettmer et al., 2019). Além disso, a liberação do nutriente pode ser lenta e incompatível com a dinâmica de sistemas de produção agrícola.

Uma forte tendência atual é a possibilidade de aumentar a liberação de K das rochas silicáticas mediante processos de biossolubilização. Inúmeros estudos, principalmente em países da Ásia, têm demonstrado que diversos grupos de microrganismos, como bactérias e fungos, têm a capacidade de solubilizar o K

retido em minerais silicáticos, por meio de sua decomposição. Microrganismos solubilizadores de potássio (MSK) têm sido amplamente utilizados como inoculantes e como biofertilizantes na Índia (Tabela 1), Coreia e China, países que possuem extensas áreas de solos deficientes em K (Sattar et al., 2019).

Diversos grupos de microrganismos como bactérias, fungos/fungos micorrízicos arbusculares, leveduras e actinobactérias solubilizadoras de K já foram isolados de solo rizosférico de diferentes plantas (Kour et al., 2020), minerais ricos em K (Sheng et al., 2008; Zhang et al., 2013; Bahadur et al., 2019), solo alagado (Bakhshandeh et al., 2017), solo com elevada salinidade (Bhattacharya et al., 2016), indústria de cerâmica (Prajapati et al., 2012), etc. Estes microrganismos apresentam maior concentração na região rizosférica em comparação com solos não rizosféricos, por causa da influência da exsudação de compostos orgânicos pelas raízes das plantas nesta região. De modo geral, a influência de microrganismos sobre a disponibilidade e o aproveitamento de K pelas plantas varia em função da rocha e da estirpe microbiana, o que torna necessária a seleção de microrganismos para cada classe ou tipo de mineral.

As bactérias solubilizadoras de potássio (BSK) desempenham um papel central na solubilização de minerais potássicos. Embora ainda existam poucas informações, Sattar et al. (2019) apresentam uma extensa revisão dos mecanismos de solubilização de K usados por bactérias. A produção de ácidos orgânicos fortes, como ácidos oxálico, tartárico e cítrico, e íons H^+ é um mecanismo importante de solubilização de minerais potássicos, como mica, biotita, muscovita, feldspato, ilita e ortoclásio (Kour et al., 2020). Outros ácidos orgânicos, como ácidos acético, glicólico, glicônico, láctico, propiônico, malônico e fumárico, também foram relatados como envolvidos na solubilização de minerais potássicos (Etesami et al., 2017). Estudos indicam que a produção de ácidos orgânicos é um dos principais mecanismos de solubilização de K em diferentes espécies de *Bacillus* (Badr et al., 2006; Sheng et al., 2008; Liu et al., 2012; Meena et al., 2016). A acidólise da rizosfera e de minerais; o intemperismo químico mediado por ácido carbônico; a quelação dos cátions ligados a silicatos por reações de troca e por fixação direta de MSK em superfícies minerais são outros mecanismos citados na literatura (Sattar et al., 2019).

Com relação aos fungos, seu papel na solubilização de K é mais pronunciado pela produção de ácidos orgânicos, especialmente ácido oxálico, cítrico e glucônico, o que leva à dissolução de minerais silicáticos, mica e feldspato (Vassileva et al., 2000). Além disso, fungos filamentosos podem exercer forças biofísicas que podem levar à ruptura dos minerais, reduzindo o tamanho das partículas e criando superfícies reativas mais acessíveis à ação dos outros microrganismos (Xiao et al., 2012).

A eficiência de uso de K na agricultura pode ser efetivamente melhorada pela inoculação de MSK, e vários estudos têm avaliado o impacto da inoculação desses microrganismos em diferentes culturas. A inoculação de sementes e plântulas com MSK resulta geralmente em aumento da produção da cultura, da porcentagem de germinação da semente, do vigor e crescimento da planta, além da absorção de K, em experimentos de casa de vegetação e de campo (Singh et al., 2010; Zhang et al., 2013; Zhang; Kong, 2014; Khani et al., 2019). Incremento na concentração de K no solo, assim como na absorção desse nutriente, já foi descrito em culturas economicamente importantes, como milho, trigo, algodão, sorgo, colza, batata, tabaco, tomate, pimenta preta, abóbora, amendoim, etc (Ashley et al., 2006), mas quase nenhum estudo tem sido realizado com soja.

Dentre os principais grupos de BSK já foram descritas as espécies *Acidothiobacillus ferrooxidans*, *Paenibacillus* spp., *Bacillus mucilaginosus*, *B. edaphicus*, *B. circulans*, *Arthrobacter* sp., *Enterobacter hormaechei*, *Paenibacillus mucilaginosus*, *P. frequentans*, *Cladosporium* sp., *Aminobacter* sp., *Sphingomonas* sp., *Burkholderia* sp., e *Paenibacillus glucanolyticus*. Entre os fungos, destacam-se os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* e os fungos micorrízicos do gênero *Glomus*. Estes microrganismos são ubíquos, e sua disponibilidade depende de estrutura, textura do solo, teor de matéria orgânica e outras propriedades relacionadas do solo (Meena et al., 2016).

O grupo de pesquisa da Embrapa Milho e Sorgo avaliou *in vitro* o potencial de 13 estirpes de microrganismos (três bactérias e dez fungos), pertencentes à coleção de Microrganismos Multifuncionais da Unidade, quanto à biossolubilização de K em meio de cultura líquido contendo o pó da rocha fonolito como fonte de K (Silva et al., 2015). Os resultados mostraram que a bactéria estirpe B30, identificada como *Burkholderia* sp., foi a mais eficiente na solubilização de K, com incremento de 70% de solubilização em relação ao controle não inoculado. Além disso, observou-se correlação entre a diminuição do pH e o aumento da solubilização de K. O fungo F76-*Aspergillus* também incrementou o teor de K cerca de 30% em relação ao controle contendo somente rocha. De modo similar, resultados de outros trabalhos envolvendo 40 isolados de fungos e rochas biotita xisto e brecha alcalina mostraram diferenças entre isolados para liberação de K *in vitro* e permitiram a seleção de microrganismos promissores para agregação de valor às rochas silicáticas como fontes de nutrientes. O potencial de solubilização de K depende do tipo de rocha e do microrganismo utilizado (Guimarães et al., 2006; Marriel et al., 2006).

Lopes-Assad et al. (2010) investigaram a capacidade de duas estirpes do fungo *A. niger* na solubilização de pó de rocha ultramáfica alcalina e relataram que ambas as estirpes aumentaram a acidez titulável do meio de cultura e reduziram o pH. As estirpes solubilizaram, aproximadamente, 62% a 70% da rocha, após 35 dias de crescimento em frascos sob agitação, porém, à medida que a escala do volume de fermentação foi aumentada, a eficiência de solubilização reduziu. Os autores concluíram que as estirpes são recomendadas para solubilização de rochas ultramáficas, mas que é necessário otimizar a transferência de oxigênio que parece afetar a solubilização da rocha em volumes maiores.

Resultados com fungos filamentosos solubilizadores de K foram reportados por Biswas (2011), que avaliou o efeito de um composto formado por resíduos agrícolas enriquecido com mica, fosfato de rocha e o fungo *Aspergillus awamori*, em um experimento de campo com rotação entre soja e batata. Os resultados indicaram que a aplicação do composto enriquecido e adicionado com diferentes concentrações de fertilizantes sintéticos resultou em maior produção e absorção de nutrientes pelos tubérculos de batata. Um aumento significativo na produção de grãos e no conteúdo de N, P e K foi observado na soja cultivada no mesmo solo com fertilidade residual. As análises no solo pós-colheita indicaram um aumento no carbono e de N, P e K disponíveis, por causa da aplicação do composto enriquecido, em comparação com o fertilizante sintético.

Singh et al. (2010) conduziram um experimento em hidroponia para avaliar o efeito da inoculação de *B. mucilaginosus*, *Rhizobium* spp., e *A. chroococcum* na capacidade de mobilizar K a partir de resíduos de mica, usando trigo e milho, como culturas teste. A capacidade de assimilação de K foi traduzida em

maior acúmulo de biomassa, conteúdo e aquisição de K pelas plantas, assim como conteúdo de proteína e de clorofila.

Algumas leveduras também apresentam a capacidade de solubilização de K pela liberação de ácidos orgânicos, porém, existem poucos estudos neste sentido. Mohamed et al. (2017) conduziram um experimento em que as leveduras *Pichia anomala* e *Rhodotorula glutinis* apresentaram elevada capacidade de solubilização de mica, em meio de cultura. A inoculação de milho, cultivado com diferentes doses de K, com estas leveduras, resultou em aumento significativo na altura das plantas, peso seco da raiz e parte aérea, assim como absorção de K pela planta. Os resultados dos parâmetros de crescimento e da absorção de K foram mais proeminentes em baixos níveis de fertilização (50% da dose recomendada) indicando a viabilidade de redução de custos de aplicação de K nestas condições.

Considerações finais

O uso de inoculantes microbianos pode ser considerado uma tecnologia que aumenta o componente biológico nos sistemas de produção da soja, garantindo a saúde do solo, tanto pela diminuição do uso de fertilizantes sintéticos quanto pela adição de microrganismos benéficos. Isto garante a esta prática um importante destaque dentro do manejo integrado de fertilizantes, alcançando visibilidade em programas importantes do governo, como o Plano ABC, de Agricultura de Baixa Emissão de Carbono, e mais recentemente no Programa Nacional de Bioinsumos, que visa aproveitar o potencial da biodiversidade brasileira para reduzir a dependência em relação aos insumos importados.

A utilização de microrganismos solubilizadores de P e K é uma tendência que tem apresentado resultados promissores em diversos países para diferentes culturas, com vários produtos comerciais no mercado global. Entretanto, não existe no Brasil inoculante comercial registrado para solubilização de K. Para solubilização do nutriente P existem comercialmente os produtos BiomaPhos, Biofree e PastoMax.

Assim, para ampliar e consolidar a oferta de bioinoculantes no mercado brasileiro, há necessidade de pesquisas futuras visando (i) identificar e caracterizar novos microrganismos mais eficientes na solubilização de P e K; (ii) caracterizar mecanismos de ação para melhor entendimento dos processos e seleção de cepas; (iii) definir condições ótimas para a atividade dos inoculantes, inclusive de interações entre diferentes microrganismos nativos do solo e outros bioinoculantes amplamente utilizados, especialmente fixadores de N, no caso da soja; (iv) ampliar os estudos em condições de campo para definição de doses e melhorar o entendimento das respostas à inoculação em diferentes condições edafoclimáticas; (v) ampliar estudos com diferentes culturas para definição da afinidade e doses; (vi) conduzir experimentos de campo de longa duração para entendimento do comportamento de inoculantes em longo prazo e impactos na saúde microbiológica do solo, inclusive em rotação de culturas.

Referências

ABREU, C. S.; FIGUEIREDO, J. E. F.; OLIVEIRA, C. A.; SANTOS, V. L.; GOMES, E. A.; RIBEIRO, V. P.; BARROS, B. A.; LANA, U. G. P.; MARRIEL, I. E. Maize endophytic bacteria as mineral phosphate solubilizers. *Genetics and Molecular Research*, v. 16, n. 1, p. 1-13, 2017. DOI: 10.4238/gmr16019294.

- AFZAL, A.; BANO, A.; FATIMA, M. Higher soybean yield by inoculation with N-fixing and P-solubilizing bacteria. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 30, p. 487-495, 2010. DOI: 10.1051/agro/2009041.
- ARAÚJO, F. F.; BONIFÁCIO, A.; BAVARESCO, L. G.; MENDES, L. W.; ARAÚJO, A. S. F. *Bacillus subtilis* changes the root architecture of soybean grown on nutrient-poor substrate. **Rhizosphere**, v. 18, article 100348, 2021. DOI: 10.1016/j.rhisph.2021.100348.
- ASHLEY, M. K.; GRANT, M.; GRABOV, A. Plant responses to potassium deficiencies: a role for potassium transport proteins. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 2, p. 425-436, 2006. DOI: 10.1093/jxb/erj034.
- ASSOCIAÇÃO NACIONAL PARA DIFUSÃO DE ADUBOS. **Anuário estatístico do setor de fertilizantes**. São Paulo, 2019.
- ASSUMPTIÃO, L. C.; LACAVA, P. T.; DIAS, A. C. F.; AZEVEDO, J. L.; MENTEN, J. O. M. Diversidade e potencial biotecnológico da comunidade bacteriana endofítica de sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 5, p. 503-510, 2009. DOI: 10.1590/S0100-204X2009000500010.
- BACKER, R.; ROKEM, J. S.; ILANGUMARAN, G.; LAMONT, J.; PRASLICKOVA, D.; RICCI, E.; SUBRAMANIAN, S.; SMITH, D. L. Plant growth-promoting rhizobacteria: context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, article 1473, 2018. DOI: 10.3389/fpls.2018.01473.
- BADR, M. A.; SHAFEI, A. M.; SHARAF EL-DEEN, S. H. The dissolution of K and P-bearing minerals by silicate dissolving bacteria and their effect on sorghum growth. **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**, v. 2, n. 1, p. 5-11, 2006.
- BAHADIR, P. S.; LIAQAT, F.; ELTEM, R. Plant growth promoting properties of phosphate solubilizing *Bacillus* species isolated from the Aegean Region of Turkey. **Turkish Journal of Botany**, v.42, p.183-196, 2018. DOI: 10.3906/bot-1706-51.
- BAHADUR, I.; MAURYA, R.; ROY, P.; KUMAR, A. Potassium-solubilizing bacteria (KSB): a microbial tool for K-solubility, cycling, and availability to plants. In: KUMAR, A.; MEENA, V. (Eds.). **Plant growth promoting rhizobacteria for agricultural sustainability**. Singapore: Springer, 2019. p. 257-265. DOI: 10.1007/978-981-13-7553-8_13.
- BAKSHSHANDEH, E.; GHOLAMHOSSEINI, M.; YAGHOUBIAN, Y.; PIRDASHTI, H. Plant growth promoting microorganisms can improve germination, seedling growth and potassium uptake of soybean under drought and salt stress. **Plant Growth Regulation**, v. 90, p. 123-136, 2020. DOI: 10.1007/s10725-019-00556-5.
- BAKSHSHANDEH, E.; PIRDASHTI, H.; LENDEH, K. S. Phosphate and potassium-solubilizing bacteria effect on the growth of rice. **Ecological Engineering**, v. 103, pt. A, p. 164-169, 2017. DOI: 10.1016/j.ecoleng.2017.03.008.
- BEHIE, S. W.; ZELISKO, P. M.; BIDOCHKA, M. J. Endophytic insect-parasitic fungi translocate nitrogen directly from insects to plants. **Science**, v.336, p. 1576-1577, 2012. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2015.03.010.
- BHATTACHARYA, S.; BACHANI, P.; JAIN, D.; PATIDAR, S. K.; MISHRA, S. Extraction of potassium from K-feldspar through potassium solubilization in the halophilic *Acinetobacter soli* (MTCC 5918) isolated from the experimental salt farm. **International Journal of Mineral Processing**, v. 152, p. 53-57, 2016. DOI: 10.1016/j.minpro.2016.05.003.
- BISWAS, D. R. Nutrient recycling potential of rock phosphate and waste mica enriched compost on crop productivity and changes in soil fertility under potato-soybean cropping sequence in an Inceptisol of IndoGangetic Plains of India. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 89, p. 15-30, 2011. DOI: 10.1007/s10705-010-9372-6.
- BONONI, L.; CHIARAMONTE, J. B.; PANSA, C. C.; MOITINHO, M. A.; MELO, I. S. Phosphorus-solubilizing *Trichoderma* spp. from Amazon soils improve soybean plant growth. **Scientific Reports**, v. 10, article 2858, 2020. DOI: 10.1038/s41598-020-59793-8.
- CARA, D. V. C.; ROCHA, D. L.; CUNHA, C. D.; RIZZO, A. C. L.; SERVULO, E. F. C. **Solubilização biológica de potássio**. Rio de Janeiro: Centro de Tecnologia Mineral, 2012. 42 p. (Série Tecnologia Ambiental, 66).
- CHEN, Y. P.; REKHA, P. D.; ARUN, A. B.; SHEN, F. T.; LAI, W. A.; YOUNG, C. C. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. **Applied Soil Ecology**, v. 34, n. 1, p. 33-41, 2006. DOI: 10.1016/j.apsoil.2005.12.002.
- CONTINI, E.; ARAGÃO, A. **O agro brasileiro alimenta 800 milhões de pessoas**. Disponível em: www.gov.br/pt-br/noticias/agricultura-e-pecuaria/2021/03/participacao-brasileira-saltou-de-us-20-6-bilhoes-para-us-100-bilhoes/populacao-alimentada-pelo-brasil.pdf. Acesso em: 10 dez. 2020.
- DETTMER, C. A.; ABREU, U. G. P.; GUILHERME, D. O.; DETTMER, T. L.; MOL, D.; SANTOS, M. H. R. Agricultura e inovação: estudo sobre a viabilidade de uso do 'pó de rocha' em sistemas de produção agrícola. In: ENCONTRO INTERNACIONAL DE GESTÃO DESENVOLVIMENTO E INOVAÇÃO, 3., 2019, Naviraí. **Anais... Naviraí: UFMS**, 2019. p. 1-10.
- DREYER, I.; GOMEZ-PORRAS, J. L.; RIEDELSBERGER, J. The potassium battery: a mobile energy source for transport processes in plant vascular tissues. **New Phytologist**, v. 216, n. 4, p. 1049-1053, 2017. DOI: 10.1111/nph.14667.

- ETESAMI, H.; EMAMI, S.; ALIKHANI, H. A. Potassium solubilizing bacteria (KSB): mechanisms, promotion of plant growth, and future prospects: a review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, v. 17, n. 4, p. 897-911, 2017. DOI: 10.4067/S0718-95162017000400005.
- ETESAMI, H.; MAHESHWARI, D. K. Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: action mechanisms and future prospects. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 156, p. 225-246, 2018. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2018.03.013.
- FERNÁNDEZ, L. A.; ZALBA, P.; GÓMEZ, M. A.; SAGARDOY, M. A. Phosphate-solubilization activity of bacterial strains in soil and their effect on soybean growth under greenhouse conditions. *Biology and Fertility of Soils*, v. 43, p. 805-809, 2007. DOI: 10.1007/s00374-007-0172-3.
- GLOBALFERT. **Importação de fertilizantes bate recorde em 2020**. Análises. Disponível em: www.globalfert.com.br/analises/importacao-de-fertilizantes-bate-recorde-em-2020/. Acesso em: 9 mar. 2021.
- GOMES, E.; SILVA, U.; MARRIEL, I.; OLIVEIRA, C.; LANA, U. Rock phosphate solubilizing microorganisms isolated from maize rhizosphere soil. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v. 13, n. 1, p. 69-81, 2014. DOI: 10.18512/1980-6477/rbms.v13n1p69-81.
- GRZEBISZ, W.; GRANSEE, A.; SZCZEPANIAK, W.; DIATTA, J. The effects of potassium fertilization on water-use efficiency in crop plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, v. 176, n. 3, p. 355-374, 2013. DOI: 10.1002/jpln.201200287.
- GUIMARÃES, P. S.; LUCIO, C. H.; SOARES, E. M.; NONATO, L. V.; COELHO, A. M.; ALVES, V. M. C.; MARRIEL, I. E. Liberação de potássio de rocha silicática brecha alcalina influenciada pelo genótipo de fungo, in Vitro. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 26; SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A LAGARTA-DO-CARTUCHO, *SPODOPTERA FRUGIPERDA*, 2; SIMPÓSIO SOBRE *COLLETOTRICHUM GRAMINICOLA*, 1, 2006, Belo Horizonte. **Inovação para sistemas integrados de produção**: trabalhos apresentados. [Sete Lagoas]: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2006.
- HAMMOND, J. P.; WHITE, P. J. Sucrose transport in the phloem: integrating root responses to phosphorus starvation. *Journal of Experimental Botany*, v. 59, n. 1, p. 93-109, 2008. DOI: 10.1093/jxb/erm221.
- HAVLIN, J.; BEATON, J.; TISDALE, S. L.; NELSON, W. **Soil fertility and fertilizers**: an introduction to nutrient management. Upper Saddle River: Prentice Hall, 1999.
- HEDRICH, R. Ion channels in plants. *Physiological Reviews*, v. 92, n. 4, p. 1777-1811, 2012. DOI: 10.1152/physrev.00038.2011.
- JABER, L. R. Grapevine leaf tissue colonization by the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* s.l. and its effect against downy mildew. *BioControl*, v. 60, p. 103-112, 2015. DOI: 10.1007/s10526-014-9618-3
- JABER, L. R.; SALEM, N. M. Endophytic colonisation of squash by the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) for managing Zucchini yellow mosaic virus in cucurbits. *Biocontrol Science and Technology*, v. 24, p. 1096-1109, 2014. DOI: 10.1080/09583157.2014.923379
- JIRAKKAKUL, J.; CHEEVADHANARAK, S.; PUNYA, J.; CHUTRAKUL, C.; SENACHAK, J.; BUJAREREN, T.; TANTICHAROEN, M.; AMNUAYKANJANASIN, A. Tenellin acts as an iron chelator to prevent iron-generated reactive oxygen species toxicity in the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *FEMS Microbiology Letters*, v. 362, p. 1-8, 2015. DOI: 10.1093/femsle/fnu032.
- KOWALSKA, J.; TYBURSKI, J.; MATYSIAK, K.; TYLKOWSKI, B.; MALUSA, E. Field Exploitation of Multiple Functions of Beneficial Microorganisms for Plant Nutrition and Protection: Real Possibility or Just a Hope? *Frontiers in Microbiology*, v. 11, article 1904, 2020. DOI: 10.3389/fmicb.2020.01904
- KALAYU, G. Phosphate solubilizing microorganisms: promising approach as biofertilizers. *International Journal of Agronomy*, v. 2019, article ID 4917256, 2019. DOI: 10.1155/2019/4917256.
- KHAN, A. L.; HAMAYUN, M.; KHAN, S. A.; KANG, S.-M.; SHINWARI, Z. K.; KAMRAN, M.; REHMAN, S.U.; KIM, J-G K; LEE, I.J. Pure culture of *Metathizium anisopliae* LHL07 reprograms soybean to higher growth and mitigates salt stress. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 28, p. 1483-1494, 2012. DOI: 10.1007/s11274-011-0950-9.
- KHANI, A. G.; ENAYATZAMIR, N.; MASIR, M. N. Impact of plant growth promoting rhizobacteria on different forms of soil potassium under wheat cultivation. *Letters in Applied Microbiology*, v. 68, n. 6, p. 514-521, 2019. DOI: 10.1111/lam.13132.
- KOUR, D.; RANAA, K. L.; KAURA, T.; YADAV, N.; HALDERC, S. K.; YADAVA, A. N.; SACHAND, S. G.; SAXENA, A. K. Potassium solubilizing and mobilizing microbes: biodiversity, mechanisms of solubilization, and biotechnological implication for alleviations of abiotic stress. In: RASTEGARI, A. A.; YADAV, A. N.; YADAV, N. (Eds.). **New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering**. Amsterdam: Elsevier, 2020. p. 177-202. DOI: 10.1016/B978-0-12-820526-6.00012-9.
- KUDASHEV, I. S. The effect of phosphobacterin on the yield and protein content in grains of Autumn wheat, maize and soybean. *Doki Akad Skh Nauk*, v. 8, p. 20-23, 1956.

- LIAO, X.; LOVETT, B.; FANG, W.; ST. LEGER, R. J. *Metarhizium robertsii* produces indole-3-acetic acid, which promotes root growth in *Arabidopsis* and enhances virulence to insects. **Microbiology**, v.163, p. 980-991, 2017. DOI: 10.1099/mic.0.000494.
- LIAO, X.; O'BRIEN, T. R.; FANG, W.; ST. LEGER, R. J. The plant beneficial effects of *Metarhizium* species correlate with their association with roots. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 98, p. 7089-7096, 2014. DOI: 10.1007/s00253-014-5788-2.
- LIU, D.; LIAN, B.; DONG, H. Isolation of *Paenibacillus* sp. and assessment of its potential for enhancing mineral weathering. **Geomicrobiology Journal**, v. 29, n. 5, p. 413-421, 2012. DOI: 10.1080/01490451.2011.576602.
- LOPES-ASSAD, M. L.; AVANSINI, S. H.; ROSA, M. M.; CARVALHO, J. R. P.; CECCATO-ANTONINI, S. R. The solubilization of potassium-bearing rock powder by *Aspergillus niger* in small-scale batch fermentations. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 56, n. 7, p. 598-605, 2010. DOI: 10.1139/w10-044.
- LOPEZ, D. C.; SWORD, G. A. The endophytic fungal entomopathogens *Beauveria bassiana* and *Purpureocillium lilacinum* enhance the growth of cultivated cotton (*Gossypium hirsutum*) and negatively affect survival of the cotton bollworm (*Helicoverpa zea*). **Biological Control**, v. 89, p. 53-60, 2015. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2015.03.010.
- MANIANIA, N. K.; SITHANANTHAM, S.; EKESI, S.; AMPONG-NYARKO, K.; BAUMGÄRTNER, J.; LÖHR, B.; MATOKA, C.M. A field trial of the entomogenous fungus *Metarhizium anisopliae* for control of onion thrips, *Thrips tabaci*. **Crop Protection**, v. 22, n. 3, p. 553-559, 2003. DOI: 10.1016/S0261-2194(02)00221-1
- MARRIEL, I. E.; COELHO, A. M.; GUIMARÃES, P. S.; SOARES, E. M.; NONATO, L. F. V.; OLIVEIRA, C. A.; ALVES, V. M. C. Seleção de isolados de fungos biossolubilizadores de rochas silicáticas in vitro. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 27; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 11; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 9; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 6., 2006, Bonito. **Fertbio 2006**: a busca das raízes: anais. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2006. (Embrapa Agropecuária Oeste. Documentos, 82).
- MARTINS, E. S.; RESENDE, A. V.; OLIVEIRA, C. G.; FURTINI NETO, A. E. Materiais silicáticos como fontes regionais de nutrientes e condicionadores de solos. In: FERNANDES, F. R. C.; LUZ, A. B. da; CASTILHOS, Z. C. (Org.). **Agrominerais para o Brasil**. Rio de Janeiro: Centro de Tecnologia Mineral, 2010. p. 89-104.
- MEENA, V. S.; BAHADUR, I.; MAURYA, B. R.; KUMAR, A.; MEENA, R. K.; MEENA, S. K.; VERMA, J. P. Potassium-solubilizing microorganism in evergreen agriculture: an overview. In: MEENA, V. S.; MAURYA, B. R.; PRAKASH VERMA, J.; MEENA, R. S. (ed.). **Potassium solubilizing microorganisms for sustainable agriculture**. New Delhi: Springer, 2016. DOI: 10.1007/978-81-322-2776-2_1.
- MCGILL, W. B.; COLE, C. V. Comparative aspects of cycling of organic C, N, S and P through soil organic matter. **Geoderma**, v. 26, n. 4, p. 267-268, 1981. DOI: 10.1016/0016-7061(81)90024-0.
- MOHAMED, H. M.; EL-HOMOSY, R. F.; ABD-ELLATEF, A. H.; SALH, F. M.; HUSSEIN, M. Y. Identification of yeast strains isolated from agricultural soils for releasing potassium bearing minerals. **Geomicrobiology Journal**, v. 34, n. 3, p. 261-266, 2017. DOI: 10.1080/01490451.2016.1186762.
- MOHAMED, H. M.; EL-HOMOSY, R. F.; ABD-ELLATEF, A. H.; SALH, F. M.; HUSSEIN, M. Y. Identification of yeast strains isolated from agricultural soils for releasing potassium bearing minerals. **Geomicrobiology Journal**, v. 34, n. 3, p. 261-266, 2017. DOI: 10.1080/01490451.2016.1186762.
- NAZIR, N.; KAMILI, A. N.; SHAH, D. Mechanism of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in enhancing plant growth: a review. **International Journal of Management, Technology and Engineering**, v. 8, p. 709-721, 2018.
- NOVAIS, R. F.; SMYTH, T. J. **Fósforo em solo e planta em condições tropicais**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1999. 399 p.
- OLIVEIRA JÚNIOR, A.; CASTRO, C.; OLIVEIRA, F. A. de; KLEPKER, D. Fertilidade do solo e avaliação do estado nutricional da soja. In: SEIXAS, C. D. S.; NEUMAIER, N.; BALBINOT JÚNIOR, A. A.; KRZYŻANOWSKI, F. C.; LEITE, R. M. V. B. C. (Eds.). **Tecnologias de produção de soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2020. p. 133-184. (Embrapa Soja. Sistemas de Produção, 17).
- OLIVEIRA-PAIVA, C. A.; ALVES, V. M. C.; MARRIEL, I. E.; GOMES, E. A.; SCOTTI, M. R.; CARNEIRO, N. P.; GUIMARÃES, C. T.; SCHAFFERT, R. E.; SÁ, N. M. H. Phosphate solubilizing microorganisms isolated from rhizosphere of maize cultivated in an oxisol of the Brazilian Cerrado Biome. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, n. 9, p. 1782-1787, 2009. DOI: 10.1016/j.soilbio.2008.01.012.
- OLIVEIRA-PAIVA, C. A.; COTA, L. V.; MARRIEL, I. E.; GOMES, E. A.; SOUSA, S. M. de; LANA, U. G. de P.; SANTOS, F. C. dos; PINTO JÚNIOR, A. S.; ALVES, V. M. C. **Viabilidade técnica e econômica do Biomaphos® (*Bacillus subtilis* CNPMS B2084 e *Bacillus megaterium* CNPMS B119) nas culturas de milho e soja**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2020a. 20 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 210).
- OLIVEIRA-PAIVA, C. A.; MARRIEL, I. E.; GOMES, E. A.; COTA, L. V.; SANTOS, F. C. dos; SOUSA, S. M. de; LANA, U. G. de P.; OLIVEIRA, M. C.; MATTOS, B. B.; ALVES, V. M. C.; RIBEIRO, V. P.; VASCO JÚNIOR, R. **Recomendação agrônômica de cepas de *Bacillus subtilis* (CNPMS B2084) e *Bacillus megaterium* (CNPMS B119) na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2020b. 18 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 260).

- OLIVEIRA-PAIVA, C. A.; COTA, L. V.; MARIEL, I. E.; ALVES, V. M. C. GOMES, E. A.; SOUSA, S. M. de; SANTOS F. C. dos; SOUZA, F. F. de; LANDAU, E. C.; PINTO JUNIOR, A. S.; LANA, U. G. de P. **Validação da recomendação para o uso do inoculante BiomaPhos® (*Bacillus subtilis* CNPMS B2084 e *Bacillus megaterium* CNPMS B119) na cultura de soja**. Sete Lagoas, MG: Embrapa Milho e Sorgo, 2021. 18p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 279)
- PAVINATO, P. S.; CHERUBIN, M. R.; SOLTANGHEIS, A.; ROCHA, G. C.; CHADWICK, D. R.; JONES, D. L. Revealing soil legacy phosphorus to promote sustainable agriculture in Brazil. **Scientific Reports**, v. 10, article 15615, 2020. DOI: 10.1038/s41598-020-72302-1.
- PRAJAPATI, K.; MODI, H. A. The importance of potassium in plant growth: a review. **Indian Journal of Plant Sciences**, v. 1, n. 1/2, p. 177-186, 2012.
- PRAJAPATI, K.; SHARMA, M.; MODI, H. Isolation of two potassium solubilizing fungi from ceramic industry soils. **Life Sciences Leaflets**, v. 5, p. 71-75, 2012.
- RAMESH, A.; SHARMA, S. K.; SHARMA, M. P. Isolation and characterization of phytate-mineralizing and phosphate-solubilizing *Bacillus aryabhatai* strains associated with rhizosphere of soybean cultivated in Vertisols of Central India. **International Journal of Basic and Applied Agricultural Research**, v. 13, p. 263-282, 2015. Special issue.
- RAYMOND, N. S.; GÓMEZ-MUÑOZ, B.; VAN DER BOM, F. J. T.; NYBROE, O.; JENSEN, L. S.; MÜLLER-STÖVER, D. S.; OBERSON, A.; RICHARDSON, A. E. Phosphate-solubilising microorganisms for improved crop productivity: a critical assessment. **New Phytologist**, v. 229, n. 3, p. 1268-1277, 2021. DOI: 10.1111/nph.16924.
- RENGEL, Z.; MARSCHNER, P. Nutrient availability and management in the rhizosphere: exploiting genotypic differences. **New Phytologist**, v. 168, n. 2, p. 305-312, 2005. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2005.01558.x.
- RICHARDSON, A. E. Soil microorganisms and phosphorus availability. In: PANKHURST, C. E.; DOUBEAND, B. M.; GUPTA, V. V. S. R. (Eds.). **Soil biota: management in sustainable farming systems**. Victoria: CSIRO, 1994. p. 50-62.
- RODRÍGUEZ, H.; FRAGA, R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnology Advances**, v. 17, n. 4/5, p. 319-339, 1999. DOI: 10.1016/s0734-9750(99)00014-2.
- SANCHEZ, P.; LOGAN, T. Myths and science about the chemistry and fertility of soils in the tropics. In: LAL, R.; SANCHEZ, P. (ed.). **Myths and science of soils of the tropics**. Madison: Soil Science Society of America, 1992. p. 35-46.
- SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, A. R.; DEL CAMPILLO, M. C.; QUESADA-MORAGA, E. *Beauveria bassiana*: an entomopathogenic fungus alleviates Fe chlorosis symptoms in plants grown on calcareous substrates. **Scientia Horticulturae**, v. 197, p. 193-202, 2015. DOI: 10.1016/j.scienta.2015.09.029.
- SASAN, R. K.; BIDOCHKA, M. J. (2013). Antagonism of the endophytic insect pathogenic fungus *Metarhizium robertsii* against the bean plant pathogen *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 35, p. 288-293, 2013. DOI: 10.1080/07060661.2013.823114.
- SATTAR, A.; NAVEEDA, M.; ALIA, M.; ZAHIRA, Z.; NADEEMB, S.; YASEENA, M.; MEENAC, V. S.; FAROOQD, M.; SINGHE, R.; RAHMANF, M.; MEENA, H. N. Perspectives of potassium solubilizing microbes in sustainable food production system: a review. **Applied Soil Ecology**, v. 133, p. 146-159, 2019. DOI: 10.1016/j.apsoil.2018.09.012.
- SHARMA, S. B.; SAYYED, R. Z.; TRIVEDI, M. H.; GOBI, T. A. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. **SpringerPlus**, v. 2, article 587, 2013. DOI: 10.1186/2193-1801-2-587.
- SHENG, X. F.; ZHAO, F.; HE, L. Y.; QIU, G.; CHEN, L. Isolation and characterization of silicate mineral-solubilizing *Bacillus globisporus* Q12 from the surfaces of weathered feldspar. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 54, n. 12, p. 1064-1068, 2008. DOI: 10.1139/W08-089.
- SILVA, U. C.; MARRIEL, I. E.; OLIVEIRA, C. A.; GOMES, E. A.; RESENDE, A. V.; LANA, U. G. P. **Biossolubilização de potássio in vitro a partir da rocha fonolito por microrganismos do solo**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2015. 28 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Documentos, 177).
- SINGH, G.; BISWAS, D. R.; MARWAHA, T. S. Mobilization of potassium from waste mica by plant growth promoting rhizobacteria and its assimilation by maize (*Zea mays*) and wheat (*Triticum aestivum* L.): a hydroponics study under phytotron growth chamber. **Journal of Plant Nutrition**, v. 33, p. 1236-1251, 2010. DOI: 10.1080/01904161003765760.
- SON, H.; PARK, G.; CHA, M.; HEO, M. Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a novel salt- and pH-tolerant *Pantoea agglomerans* R-42 isolated from soybean rhizosphere. **Bioresourch Technology**, v. 97, n. 2, p. 204-210, 2006. DOI: 10.1016/j.biortech.2005.02.021.
- SOUSA, S. M.; OLIVEIRA-PAIVA, C. A.; ANDRADE, D. L.; CARVALHO, C. G.; RIBEIRO, V. P.; PASTINA, M. M.; MARRIEL, I. E.; LANA, U. G. P.; GOMES, E. A. Tropical *Bacillus* strains inoculation enhances maize root surface area, dry weight, nutrient uptake and grain yield. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 40, p. 867-877, 2021. DOI: 10.1007/s00344-020-10146-9.
- SPARKS, D. L.; HUANG, P. M. Physical chemistry of soil potassium. In: MUNSON, R. D. (Ed.). **Potassium in agriculture**. Madison: American Society of Agronomy, 1985. p. 201-276.
- VASSILEVA, M.; AZCON, R.; BAREA, J.; VASSILEV, N. Rock phosphate solubilization by free and encapsulated cells of *Yarrowia lipolytica*. **Process**

Biochemistry, v. 35, n. 7, p. 693-697, 2000. DOI: 10.1016/S0032-9592(99)00132-6.

VELLOSO, C. C. V.; OLIVEIRA-PAIVA, C. A.; GOMES, E. A.; LANA, U. G. P.; CARVALHO, C. G.; GUIMARÃES, L. J. M.; PASTINA, M. M.; SOUSA, S. M. de. Genome-guided insights of tropical *Bacillus* strains efficient in maize growth promotion. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 96, n. 9, f1aa157, 2020. DOI: 10.1093/femsec/f1aa157.

WANG, N.; HUA, H.; ENEJI, A. E.; LI, Z.; DUAN, L.; TIAN, X. Genotypic variation in photosynthetic and physiological adjustment to potassium deficiency in cotton (*Gossypium hirsutum*). **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 110, p. 1-8, 2012. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2012.02.002.

WANG, W.; SARPONG, C. K.; SONG, C.; ZHANG, X.; GAN, Y.; WANG, X.; YONG, T.; CHANG, X.; WANG, Y.; YANG, W. Screening, identification and growth promotion ability of phosphate solubilizing bacteria from soybean rhizosphere under maize-soybean intercropping systems. **bioRxiv**, 2020. DOI: 1101/2020.12.15.422997.

WASULE, D. L.; WADYALKAR, S. R.; BULDEO, A. N. Effect of phosphate solubilizing bacteria on role of *Rhizobium* on nodulation by soybean. In: INTERNATIONAL MEETING ON MICROBIAL PHOSPHATE SOLUBILIZATION, 1., Salamanca, 2007. **Plant and soil**. Dordrecht: Springer, 2007. p. 139-142. (Developments in Plant and Soil Sciences, 102).

XIAO, B.; LIAN, B.; SHAO, W. Do bacterial secreted proteins play a role in the weathering of potassium-bearing rock powder? **Geomicrobiology Journal**, v. 29, n. 6, p. 497-505, 2012. DOI: 10.1080/01490451.2011.581333.

ZAIDI, A.; KHAN, M. S.; AHMED, M.; OVES, M.; WANI, P. A. Recent advances in plant growth promotion by phosphate-solubilizing microbes. In: KHAN, M. S.; ZAIDI, A.; MUSARRAT, J. (Ed.). **Microbial strategies for crop improvement**. Berlin: Springer-Verlag, 2009. p. 23-50.

ZHANG, A.; ZHAO, G.; GAO, T.; WANG, W.; LI, J.; ZHANG, S.; ZHU, B. Solubilization of insoluble potassium and phosphate by *Paenibacillus kribensis* CX-7: a soil microorganism with biological control potential. **African Journal of Microbiological Research**, v. 7, p. 41-47, 2013.

ZHANG, C.; KONG, F. Isolation and identification of potassium-solubilizing bacteria from tobacco rhizospheric soil and their effect on tobacco plants. **Applied Soil Ecology**, v. 82, p. 18-25, 2014. DOI: 10.1016/j.apsoil.2014.05.002.

ZHOU, K.; BINKLEY, D.; DOXTADER, K. G. A new method for estimating gross phosphorus mineralization and immobilization rates in soils. **Plant and Soil**, v. 147, p. 243-250, 1992. DOI: 10.1007/BF00029076.

ZÖRB, C.; SENBAYRAM, M.; PEITER, E. Potassium in agriculture: status and perspectives. **Journal of Plant Physiology**, v. 171, n. 9, p. 656-669, 2014. DOI: 10.1016/j.jplph.2013.08.008.

Inoculantes micorrízicos arbusculares para a cultura da soja

Shantau Camargo Gomes Stoffel
Claudio Roberto Fonseca Sousa Soares
Admir José Giachini
Paulo Emílio Lovato

Introdução

As plantas mantêm relações simbióticas com microrganismos do solo que, por meio de diversos mecanismos de ação, promovem o crescimento vegetal ou amenizam estresses ambientais. A soja é provavelmente o melhor exemplo de aplicação desses benefícios, por sua associação com as bactérias fixadoras de nitrogênio que se instalam nos nódulos de suas raízes (ver Capítulo 8). No entanto, há outras associações de relevância para as plantas. As micorrizas arbusculares são associações entre as raízes de mais de 90% das espécies vegetais e um grupo de fungos de solo, os Glomeromycetes, ou Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMA) (Schüßler et al., 2001). Há evidências de que esta associação surgiu há mais de 400 milhões de anos (Bonfante; Genre, 2008), facilitando a transição dos vegetais do ambiente aquático para o terrestre, quando as plantas ainda possuíam um sistema radicular rudimentar. Também há evidências de que os mecanismos genéticos e bioquímicos que viabilizam e regulam o estabelecimento e funcionamento das micorrizas, ocorrem em outras simbioses, como a que ocorre entre as leguminosas e as bactérias nodulíferas fixadoras de nitrogênio (Schmitz; Harrison, 2014; Ghahremani; MacLean, 2021).

Micorrizas arbusculares: caracterização e importância para o sistema solo-planta

Os FMA pertencem ao filo Glomeromycota, com mais de 300 espécies descritas, das quais mais de 60% delas já foram encontradas no Brasil (Maia et al., 2020). Os FMA são simbioses obrigatórios, pois necessitam estar associados às plantas para completar seu ciclo de vida (Schüßler et al., 2001). Os propágulos dos FMA (hifas, esporos e fragmentos de raízes colonizadas) são estimulados a germinar por fatores como exsudatos radiculares, flavonoides, umidade, pH, temperatura, concentração de CO₂, entre outros (Giovannetti et al., 2010; Lambais; Ramos, 2010). Quando em contato com a raiz, as hifas pré-germinativas se expandem e diferenciam-se em apressórios e, em seguida, crescem no córtex radicular para posteriormente se diferenciarem em arbúsculos.

Os arbúsculos, a principal estrutura de fluxo de nutrientes entre planta e FMA, são formados pela ramificação e envelhecimento de hifas em um espaço entre a membrana citoplasmática, diferenciada e

identificada como membrana peri-arbuscular, e a parede celular vegetal (Varma, 2008; Folli-Pereira et al., 2012). A formação de arbúsculos está relacionada à sua função principal de fornecimento de água e nutrientes, como o fósforo, cobre, nitrogênio, zinco e potássio do FMA para a planta, e a transferência de 4 a 20% dos fotoassimilados da planta para o FMA, que tem aí sua única fonte de carbono (Douds et al., 2000).

Uma vez estabelecida a associação intrarradicular e iniciado o fluxo de carbono da planta para o FMA, as hifas crescem no solo formando o micélio extrarradicular (MER), que atua como uma extensão do sistema radicular, aumentando significativamente a exploração e absorção de água e nutrientes do solo (Souza et al., 2011). Uma série de benefícios para as plantas resultam desta associação, como maior resistência à estresses hídricos e salinos, tolerância à acidez do solo (Folli-Pereira et al., 2012), melhor resposta ao ataque de patógenos (Li et al., 2013; Qian et al., 2015; Jie et al., 2019), melhor adaptação em áreas contaminadas com metais como Cu, Zn e Pb (González-Chávez et al., 2004; Vodnik et al., 2008; Meyer et al., 2016; Stoffel et al., 2016), maior aporte e aproveitamento de nutrientes (Marschner; Dell, 1994), maior atividade enzimática (Andrade; Silveira, 2004), maior estabilização dos agregados (Wright; Upadhyaya, 1998) e, conseqüentemente, maior aeração e retenção de água no solo.

Em razão da grande representatividade do cultivo de soja na produção de grãos no Brasil e no mundo, estudos buscam compreender a extensão dos benefícios promovidos pela inoculação de FMA em soja (Tabela 1).

Tabela 1. Resultados de estudos envolvendo a resposta da soja à inoculação de fungos micorrízicos arbusculares em diferentes condições de cultivo.

Espécie de FMA	Principais resultados	Referência
FMA autóctones <i>Claroideoglossum etunicatum</i> , <i>Funnelformis mosseae</i> , <i>Glomus macrocarpum</i> e <i>Rhizophagus intraradices</i> .	Aumento de crescimento, rendimento e acúmulo de P.	Adeyemi et al. (2020), Adeyemi et al. (2021), Faggioli et al. (2020); Nogueira; Cardoso (2002), Stoffel et al. (2020a).
<i>G. etunicatum</i> e <i>G. fasciculatum</i> .	Tolerância das plantas à acidez do solo.	Maddox; Soileau (1991).
<i>G. etunicatum</i> , <i>G. macrocarpum</i> , <i>Gigaspora margarita</i> e <i>R. intraradices</i> .	Redução do efeito fitotóxico de metais (Pb, Mn) sobre as plantas.	Andrade; Silveira (2004), Andrade et al. (2003), Manara (2012), Nogueira; Cardoso (2000), Nogueira; Cardoso (2003), Spagnolett et al. (2017).
FMA autóctones e <i>G. macrocarpum</i> .	Interação positiva com a comunidade autóctone, aumento da biomassa microbiana e atividade biológica do solo.	Andrade; Silveira (2004), Hoeksema et al. (2010).
<i>C. etunicatum</i> , <i>Dentiscutata heterogama</i> e <i>R. clarus</i> .	Crescimento inicial da soja e acúmulo de nutrientes com aplicação de formononetina.	Salgado et al. (2016).
<i>G. clarum</i> , <i>G. etunicatum</i> , <i>G. fasciculatum</i> , <i>G. macrocarpum</i> , <i>G. margarita</i> e <i>R. intraradices</i> .	Sinergia entre FMA e BFN, maior crescimento da soja, nodulação, acúmulo de P e N, e produção de açúcares.	Adeyemi et al. (2021), Bidondo et al. (2011), Clua et al. (2013), Harris et al. (1985), Pereira et al. (2013), Püschel et al. (2017), Silva et al. (2017).
FMA autóctones	Aumento da colonização micorrízica e biomassa de raízes, em conjunto com fungos promotores de crescimento de plantas.	Farias et al. (2018).
<i>F. mosseae</i> e <i>R. intraradices</i> .	Proteção contra patógenos de raiz e parte aérea.	Giachero et al. (2017), Jie et al. (2019), Leigh et al. (2011), Li et al. (2013), Qian et al. (2015), Sastrahidayat et al. (2011), Spagnolett et al. (2017).

Algumas pesquisas também têm avaliado a interação entre fertilizantes, diferentes espécies de FMA e a coinoculação com outros microrganismos promotores do crescimento de plantas (MPCP), tanto a campo (considerando as variações de manejo), quanto em condições controladas.

Crescimento, aporte nutricional e tolerância à estresses

As plantas podem responder de maneira muito distinta à associação com FMA, chegando a apresentar dependência à associação para manter seu desenvolvimento normal. Tem se comprovado o efeito da colonização micorrízica em soja com percentuais de colonização de mais 70% (Meghvansi; Mahna, 2009; Bidondo et al., 2011; Spagnoletti; Lavado, 2015), sendo que a soja foi classificada por Cavalcante et al. (2009) como uma planta de responsividade alta ou muito alta aos FMA. Faggioli et al. (2020) demonstraram que plantas de soja associadas a FMA autóctones tiveram maior crescimento e acúmulo de P, tanto com fornecimento de P via solução nutritiva, quanto em sistema sem adubação, enquanto plantas não micorrizadas não respondiam ao fornecimento de P na mesma proporção. Entretanto, a contribuição dos FMA para o crescimento das plantas é dependente também de outros fatores, como as espécies dos simbiontes, as condições químicas, físicas e biológicas do solo, temperatura, disponibilidade de água, ataque de patógenos, dentre outros.

A disponibilidade de P no solo é um dos fatores mais estudados em relação à associação planta-FMA, pois sua baixa disponibilidade nos solos brasileiros (Pavinato et al., 2020) é muitas vezes suprida pela extensa ramificação promovida pelos FMA no solo. Em solos ácidos, a disponibilidade de P é reduzida pela adsorção nas partículas de argila (Novais et al., 2007), e além de colaborar diretamente com a absorção de P, a inoculação de FMA em soja pode aumentar a tolerância das plantas à acidez do solo (Maddox; Soileau, 1991). O efeito dos FMA é muito estudado em condições controladas para estimar o potencial da associação, e há estudos a campo para identificar o comportamento sob distintas condições ambientais.

Em trabalho pioneiro com um produto comercial à base de FMA no Brasil, Stoffel et al. (2020a) observaram que a inoculação de *Rhizophagus intraradices* promoveu aumento médio de 29% no rendimento de grãos da soja em condições de campo, chegando até a 65% quando comparado ao controle não inoculado e adubado com diferentes doses de P (0, 50 e 100% da recomendação), além de promover rendimento igual ou superior ao controle, mesmo com redução da adubação. Este efeito provavelmente é decorrente do melhor aproveitamento do P, promovido pelo crescimento do micélio extrarradicular total (MET) no solo. Entretanto, quando o P no solo deixa de ser um fator limitante em virtude da elevada aplicação de fertilizantes minerais visando a manutenção da produtividade das lavouras, o crescimento do FMA pode ser inibido pelo simbionte vegetal (Nogueira; Cardoso, 2000, 2007), havendo redução da colonização micorrízica e do MET.

A presença de elementos tóxicos em concentrações elevadas também pode prejudicar o crescimento normal das plantas. Nessas condições, a associação com FMA pode contribuir com a atividade biológica do solo, como demonstrado no trabalho de Andrade; Silveira (2004), no qual a inoculação de *G. macrocarpum* em soja propiciou maior atividade e biomassa microbiana do solo que recebeu doses altas de chumbo. O crescimento e atividade dos FMA no solo também interferem na dinâmica, disponibilidade e absorção

de metais, minimizando efeitos tóxicos que ocorrem quando há altos níveis no solo (Manara, 2012). A inoculação de *Glomus macrocarpum* em soja se mostrou eficiente para a manutenção e incremento de biomassa e acúmulo de nutrientes em doses elevadas de chumbo, mesmo com redução da colonização nas maiores doses (Andrade et al., 2003). Resultados similares foram observados por Nogueira; Cardoso (2000), que constataram que a inoculação de *R. intraradices* e *Gigaspora margarita*, além de promover crescimento da planta, reduziu a absorção de ferro e manganês quando em alta disponibilidade.

Ainda estudando a toxicidade causada pelo excesso de manganês, a inoculação de *Glomus etunicatum* e *R. intraradices* aumentou a biomassa das plantas, com menor concentração de manganês na parte aérea e raízes (Nogueira; Cardoso, 2003). No mesmo estudo, mas em solo mais argiloso, houve promoção do crescimento, porém com maior absorção de manganês, causando sintomas de toxidez com a inoculação de *G. macrocarpum*.

A inoculação e o manejo de FMA são tecnologias adequadas para manter ou aumentar a produtividade da soja, reduzindo-se, em muitos casos, a adubação fosfatada. Este cenário traz benefícios para além dos fatores tradicionais, como melhorias na qualidade física, química e biológica do solo, aumento da atividade da microbiota, da disponibilidade de nutrientes, além de controle ou resistência a patógenos.

Modificações químicas e físicas do solo

Glomalina, formação de agregados, retenção de água e proteção da matéria orgânica

A glomalina é uma glicoproteína hidrofóbica que constitui parte da estrutura da parede celular de hifas e esporos dos FMA (Wright; Upadhyaya, 1996; Rillig; Mummey, 2006). Acredita-se que sua produção seja exclusiva ao Filo Glomeromycota, uma vez que nunca foi identificada na ausência de fungos desse filo (Wright; Upadhyaya, 1996; Wright et al., 1996; Wright; Upadhyaya, 1998). As glomalinas, formadas por 60% de carboidratos e 8% de ferro, são divididas em quatro grupos com diferentes graus de estabilidade, de fácil à difícil extração utilizando citrato de sódio (Wright; Upadhyaya, 1998). As maiores concentrações são encontradas na parede das hifas e nos esporos, e dessa forma sua deposição no solo ocorre principalmente pela decomposição destas estruturas, podendo permanecer estáveis no solo por mais de 40 anos (Rillig, 2004). O estudo das glomalinas apresenta limitações metodológicas, o que interfere nos valores e quantificações propostos. Assim, quando são utilizados extratores como o citrato de sódio, a maneira mais adequada é identificar as proteínas extraídas como “proteínas do solo relacionadas à glomalina” (PSRG), dado que são extraídas não só as glomalinas, mas também outras proteínas do solo.

O crescimento das hifas extrarradiculares que compõem o micélio e a deposição da glomalina no solo promovem uma série de modificações físicas, químicas e biológicas que são essenciais ao processo de estabilização e recuperação da qualidade do solo (Miller; Jastrow, 2000). As hifas envolvem partículas de solo, auxiliando na formação e estabilidade dos agregados. Por conta de sua composição e característica hidrofóbica, as glomalinas atuam como adesivos no solo, favorecendo a união das partículas e, conseqüentemente, a construção de agregados (Rillig, 2004). A construção de agregados estáveis no solo permite a aeração, a infiltração e o armazenamento de água, estimulando as trocas gasosas do solo e o crescimento de raízes (Rillig, 2004; Rillig; Mummey, 2006; Wright et al., 2007). Além disso, um solo

agregado favorece a proteção da matéria orgânica do solo (MOS), além do crescimento e atividade da microbiota, reduzindo os riscos de erosão (Wright; Upadhyaya, 1996; Wright et al., 2007).

A estrutura do solo é vital para a sustentabilidade dos ecossistemas e o crescimento de plantas, o que evidencia a importância funcional dos FMA, principalmente em agroecossistemas que sofrem constantes modificações. O efeito dos FMA nestas situações é demonstrado no trabalho de Vilela et al. (2014) com a inoculação de *G. macrocarpum* em diferentes sucessões de culturas no Cerrado, onde a inoculação com FMA favoreceu o crescimento do estilozantes (com aumentos de até 91% na biomassa), além de ter aumentado a biomassa microbiana, atividade da fosfatase ácida e o tamanho dos agregados do solo. A prática de rotação e a diversidade de espécies vegetais junto à soja são importantes para a manutenção, crescimento do MER e produção de propágulos de FMA (Truber; Fernandes, 2014).

A biomassa dos FMA pode representar de 20 a 30% da biomassa microbiana do solo (Olsson et al., 1999; Olsson; Wilhelmsson, 2000). Entretanto, a participação dos FMA no estoque de carbono no solo vai além da quantidade, pois a qualidade das substâncias produzidas é diferenciada dos demais grupos de microrganismos. O conteúdo e composição, rico em carboidratos das PSRG dos FMA, unida à longa persistência de algumas frações mais estáveis no solo, conferem a esta substância a capacidade de contribuir com uma parcela significativa do carbono orgânico do solo, podendo conter até 20 vezes mais carbono do que a biomassa microbiana (Rillig et al., 2001). Outra característica das PSRG é a capacidade de reter metais pesados, reduzindo sua biodisponibilidade (Ferrol et al., 2016) e protegendo plantas e microrganismos de possíveis efeitos tóxicos quando os metais estão em concentrações altas no solo (González-Chavéz et al., 2004; Vodnik et al., 2008; Sousa et al., 2012).

As melhorias promovidas pela inoculação com FMA, tanto na produção de biomassa vegetal, quanto na biomassa microbiana do solo, desencadeiam uma sequência de modificações na qualidade do sistema que normalmente resultam em maior produção de biomassa, tanto vegetal quanto de microrganismos (Hossain, 2021). Essas melhorias resultam na maior deposição de resíduos vegetais sobre o solo, proporcionando maior proteção superficial, estabelecendo uma taxa acelerada de decomposição de resíduos pela microbiota e produção de MOS.

Estímulo e interação da microbiota rizosférica

Substâncias estimulantes da atividade biológica do solo

Substâncias exsudadas pelo sistema radicular na rizosfera (rizodeposição) dão suporte energético para um ambiente de intensa atividade microbiana, onde ocorre uma grande competição por compostos orgânicos, como açúcares, aminoácidos, fitormônios, ácidos orgânicos, entre outros (York et al., 2016). Os FMA, bem como as raízes, atuam como um dreno de carbono das plantas (Bago et al., 2000; Soudzilovskaia et al., 2019; Parihar et al., 2020), recebendo açúcares diretamente dos arbúsculos e hifas intrarradiculares, transportados e depositados no solo pelo MER. Esta estrutura de transporte forma uma via alternativa de açúcares para a atividade microbiana do solo, e tais modificações podem afetar a taxa de decomposição da MOS pelo estímulo da atividade de microrganismos mineralizadores (Hodge et al., 2001).

Além do aumento da oferta de açúcares para a comunidade micorrizosférica, outras substâncias produzidas pelas raízes e pelos microrganismos podem promover o estímulo recíproco do crescimento

dos simbioses. Em ambiente controlado, os esporos da maioria das espécies de FMA são capazes de germinar apenas imersos em água destilada (Siqueira et al., 1985; Mosse, 1988). Entretanto, as plantas e os fungos desenvolveram estratégias para estimular, por exemplo, a germinação de propágulos e ramificação de hifas de FMA, acelerando a colonização inicial. Um dos exsudatos radiculares capaz de induzir a germinação de esporos de FMA é o isoflavonóide formononetina (Nair et al., 1991; Santos et al., 2020). A formononetina é um hormônio, produzido também pelas plantas, que em alguns países é utilizado como estimulante da micorrização na agricultura. Dois estudos no Brasil têm comprovado esse efeito benéfico da formononetina na agricultura (Siqueira et al., 1999; Santos et al., 2020).

Salgado et al. (2016) demonstraram que formononetina aplicada com isolados de FMA do Cerrado (*Claroideoglomus etunicatum*, *Dentiscutata heterogama*, *Rhizophagus clarus*) estimulou o crescimento inicial da soja, o aumento do acúmulo de matéria seca e nutrientes, mas o efeito não foi tão marcante em solos com elevados teores de P (Andrade et al., 2018). Sabe-se que os FMA, e outros MPCP como bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) e demais bactérias promotoras do crescimento de plantas (BPCP), podem influenciar reciprocamente o crescimento da soja, e seguindo esta ideia, Silva et al. (2017) demonstraram que a formononetina estimula a colonização por FMA de raízes com nódulos ativos, mas o efeito também foi inibido com o aumento de P.

Apesar de muitos trabalhos mostrarem que a inoculação de FMA promove acréscimos significativos na deposição de carbono no solo ou no estoque de PSRG, nem sempre são observados resultados com a simples inoculação. Estas avaliações sofrem influência de fatores como manejo, temperatura, características e diversidade da comunidade microbiana, além da compatibilidade entre os simbioses. No estudo de Walley et al. (2014), a coinoculação de FMA e BPCP não aumentou a quantidade de C, N e PSRG, pois estas variáveis não dependem exclusivamente da presença ou quantidade de biomassa de FMA no solo, o que comprova a complexidade das interações entre organismos nos sistemas agrícolas.

Os extratos vegetais e moléculas de agroquímicos são objetivo de muitos estudos para definir seus efeitos sobre o crescimento vegetal. Os extratos vegetais podem ser aplicados, mas também são naturalmente depositados pela decomposição de resíduos das plantas, tendo efeito sobre o crescimento da comunidade microbiana. Faria et al. (2009) observaram que extratos de folhas de mucuna (*Stizolobium aterrimum*) e milheto (*Pennisetum americanum*) reduziram o comprimento do hipocótilo e da radícula da soja, e extratos de *Pinus* aumentaram esses comprimentos, enquanto todos os extratos reduziram a colonização micorrízica e o número de esporos de FMA. Quanto a substâncias químicas, em experimentos *in vitro* e em vasos com doses crescentes de um herbicida à base de glifosato, foram observados efeitos inibitórios ao crescimento de *Bradyrhizobium* spp. e a três espécies de FMA em meio de cultura (*G. margarita*, *G. etunicatum* e *Scutellospora heterogama*) quando em doses maiores às recomendadas. Entretanto, a aplicação do herbicida ao solo, até a dose equivalente a 10 L ha⁻¹, não influenciou na nodulação e na colonização micorrízica da soja (Malty et al., 2006).

Proteção contra patógenos

Assim como existem interações positivas entre microrganismos, também são relatados efeitos antagônicos, como os identificados entre FMA e alguns patógenos, abrindo caminho para estudos sobre

o potencial do uso de FMA para este fim. As plantas, quando atacadas, liberam substâncias para inibir o crescimento dos patógenos, e na presença de FMA esse efeito pode ser potencializado (Li et al., 2013).

A literatura traz exemplos de trabalhos que possibilitaram relacionar a inoculação de diferentes espécies de FMA em soja e a redução dos danos causados por patógenos. A inoculação de FMA pode alterar a composição da comunidade de fungos da rizosfera, causando, por exemplo, uma redução no conteúdo de DNA de *Fusarium oxysporum* após a inoculação com *Funneliformis mosseae* (Qian et al., 2015). Outro estudo com *F. mosseae* mostrou que o índice de doenças atreladas à podridão radicular, como as causadas por *Fusarium* spp., diminui significativamente após a inoculação com FMA (Jie et al., 2019).

Combinando fatores bióticos e abióticos de estresse em um mesmo experimento, Spagnolett et al. (2017) constataram que a inoculação de soja com *R. intraradices* em solo contaminado com doses crescentes de arsênio (de 0 a 50 mg As kg⁻¹) foi capaz de reduzir a intensidade do ataque pelo fungo patogênico *Macrophomina phaseolina*. Além disso, a inoculação também reduziu o acúmulo de arsênio na biomassa da soja, provavelmente pelo conteúdo de glomalina produzido nos substratos enriquecidos com esse elemento (Spagnolett et al., 2017). Sastrahidayat et al. (2011) observaram redução do percentual de morte de plantas devido ao ataque de *Sclerotium rolfsii*, enquanto Leigh et al. (2011) relataram interação antagonista entre bactérias saprofitas e FMA.

Alterações metabólicas em resposta a patógenos e a inoculação de FMA possibilitam entender como ocorrem essas modificações. Li et al. (2013) observaram que plantas de soja inoculadas com FMA apresentaram maior liberação de peróxido de hidrogênio e acúmulo de ácido jasmônico em resposta à invasão por *Phytophthora*, bem como modificações no metabolismo, indicado pelo aumento do nível de açúcares solúveis e atividades enzimáticas quando associadas a FMA. A pré-inoculação *in vitro* de plântulas com *Rhizophagus irregularis* permitiu concluir que na presença de FMA houve uma diminuição dos sintomas e do nível de infecção por *F. virguliforme* no tecido radicular, observando-se lesões necróticas menores, além de uma infecção mais lenta do patógeno (Giachero et al., 2017).

Coinoculação com outros MPCP

O solo é um ambiente rico e diverso, onde interações simbióticas, parasíticas, neutras e competitivas ocorrem simultaneamente entre os mais diversos grupos de microrganismos, e não seria diferente com os FMA. A pesquisa agrícola constantemente desenvolve novos produtos biológicos para controlar o ataque de pragas e doenças, além de inoculantes a base de MPCP (Gomes et al., 2016). A inoculação de BFN na soja já uma prática muito bem estabelecida como única e exclusiva prática de manejo para fornecer nitrogênio para a soja (consultar capítulo 8). Entretanto, a tripla associação de FMA-BFN-planta pode proporcionar condições ainda melhores para o desenvolvimento da soja.

Os FMA interagem com outros organismos da rizosfera, e as interações entre organismos na rizosfera e nas raízes podem resultar em sinergias. Contudo, as relações são complexas (Owen et al., 2015; Sarpong et al., 2020) e embora haja claros benefícios da ação das BFN e FMA, os mecanismos envolvendo a interação entre soja e esses microrganismos precisam ser melhor entendidos (Meena et al., 2018).

Os FMA, por sua grande capacidade de absorver e translocar nutrientes do solo (principalmente o P), podem amenizar deficiências nutricionais da planta, possibilitando maior crescimento, produção

de fotoassimilados, permitindo que a planta direcione uma quantidade maior de açúcares para os nódulos radiculares, aumentando assim a taxa de FBN (Püschel et al., 2017). Bidondo et al. (2011) mostraram que a coinoculação de FMA (*Rhizophagus intraradices*) e BPCP (*Bradyrhizobium japonicum* e *Paenibacillus*) pode beneficiar o crescimento da soja, bem como a interação entre a comunidade autóctone e a inoculação de FMA (*G. etunicatum* ou *G. macrocarpum*) já mostrou ser capaz de promover o crescimento, aumentar o teor de P na biomassa, e atenuar a toxidez de Mn em soja (Nogueira; Cardoso, 2002).

O movimento de açúcares e a fixação e alocação de C em soja inoculada com FMA, foram estudados relacionando a mobilização de amido e a concentração de P foliar. Harris et al. (1985) constataram que a inoculação com *G. fasciculatum* aumentou de 9% para 12% a concentração de fotossintatos nos nódulos radiculares (*B. japonicum*), e apesar da utilização de 8 a 17% dos fotossintatos, a inoculação com FMA promoveu acréscimos de até 52% na fixação de CO₂ nas folhas.

O MER também apresenta papel importante na translocação de BFN do solo para o sistema radicular, facilitando o estabelecimento desta relação simbiótica (Novais et al., 2020). As bactérias, quando em estágio de vida livre, podem colonizar o MER e nele encontrar uma via direta para as células do córtex radicular. A sinergia pode ser ainda mais evidente em solos com baixa fertilidade, quando a coinoculação de *B. japonicum* e *G. mosseae*, em conjunto com o tratamento fitoterápico via semente, resultam em aumento significativo no crescimento da soja, bem como no número de nódulos (Clua et al., 2013). Os efeitos destas associações se estendem para diferentes condições de cultivo e diversos isolados de FMA (*G. margarita* e *G. clarum*) e rizóbios (*B. elkanii* e *B. japonicum*) (Pereira et al., 2013), tendo-se relatado acréscimos de 7,7 e 5,0 vezes no peso seco de nódulos e biomassa aérea das plantas, respectivamente.

Um ambiente com uma comunidade microbiana equilibrada pode controlar proliferações intensas de microrganismos patogênicos (Hoeksema et al., 2010), onde a resposta da soja à inoculação de FMA na presença ou ausência de comunidades autóctones do solo, é melhor onde há maior complexidade da comunidade do solo. As análises ainda apontam que a resposta é mais positiva quando as plantas são limitadas pela disponibilidade de P do que de N (Hoeksema et al., 2010), corroborando com os resultados de Püschel et al. (2017).

Farias et al. (2018) avaliaram o efeito da inoculação de um consórcio de fungos promotores do crescimento (*Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Pochonia chlamydosporia*, *Purpureocillium lilacinum* e *Trichoderma asperellum*) sobre o crescimento e colonização micorrízica da soja. Neste estudo, o consórcio estimulou a produção de biomassa radicular e a colonização micorrízica da soja. Corbera; Nápoles (2010), avaliando 16 combinações de bioestimulantes e fontes minerais de nutrientes, obtiveram 31% de aumento da biomassa aérea, e 6,4 vezes mais biomassa seca de nódulos na inoculação combinada de *B. japonicum* e FMA. Tais efeitos provavelmente decorrem da produção de fitormônios dos fungos, que induzem as plantas a sintetizar reguladores da colonização micorrízica como auxinas e ácidos jasmônico, abscísico e salicílico.

Inoculantes micorrízicos

Formulações e métodos de cultivo

Em virtude da gama de benefícios proporcionados pelos FMA, pesquisadores e empresas buscam desenvolver formulações que contenham FMA e permitam a aplicação a campo em larga escala de maneira economicamente viável. O processo é longo, e os trabalhos precisam focar em desenvolver produtos de qualidade, estáveis e eficientes, e para isso, dependem de testes em ambientes controlados e a campo. Esses testes permitem definir as melhores formulações, métodos de inoculação, armazenamento, densidade de propágulos (por área ou volume de substrato) e doses de aplicação. Outros fatores vinculados às etapas de produção, como a escolha da espécie simbiote (FMA), a textura do substrato, temperatura, umidade do solo e concentrações de nutrientes (NPK), também devem ser ajustados para cada sistema.

Existem produtos à base de FMA com diferentes formulações (granular, líquida, pó seco e solúvel), sendo indicados para várias culturas de importância agrícola. A composição também varia entre propágulos puros, misturas de espécies de FMA, além de fungos de outros filos e bactérias. Há alguns métodos de cultivo descritos na literatura, e as principais limitações e vantagens de cada um dos processos são descritas nas propostas. Essas tecnologias e sistemas tentam contornar a dificuldade de cultivo gerada pela exigência de associação dos FMA com células vegetais para crescer e completar seu ciclo de vida.

Produção em substrato sólido

O método de produção em substrato sólido exige um recipiente livre de propágulos, um substrato esterilizado (solo, areia, argila, substratos inertes) e uma planta que estimule a esporulação da espécie de FMA a ser multiplicada. O inóculo de FMA inicial deve ser de qualidade, e pode ser obtido de coleções como a Coleção Internacional de Culturas de Glomeromycota (CICG), <http://www.furb.br/cicg>, a “International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi” (INVAM) <https://invam.wvu.edu>, ou de espécies de interesse isoladas por culturas armadilha. Nesse sistema, as sementes são desinfetadas, e a inoculação pode ser diretamente na semente ou nas raízes de sementes pré-germinadas.

Este é um método vantajoso por ser de fácil aplicabilidade, mas é uma opção viável apenas em escalas reduzidas (Habte; Osório, 2001). Nesse sistema, o período de cultivo pode ser longo (até seis meses) e é limitado pelo volume de substrato necessário e pela necessidade de grandes espaços para a produção em vasos ou bandejas (Habte; Osório, 2001). Outros fatores como luminosidade para estimular a fotossíntese das plantas simbiotes, o controle da temperatura, e a possibilidade de contaminação com a passagem de ar e insetos carregados com propágulos de FMA, podem dificultar o processo.

Sistemas hidropônicos e aeropônicos

Nesses sistemas, as mudas são pré cultivadas e inoculadas em recipientes e substratos livres de propágulos fúngicos, e assim que se comprova a colonização micorrízica com uma amostra de raiz, as mudas são transferidas para um sistema de cultivo hidropônico convencional (fluxo constante, intermitente ou aerado). Porém, são necessárias modificações nas concentrações dos nutrientes da solução nutritiva (principalmente P), que devem ser ajustados para não inibir a colonização micorrízica (Habte; Osório, 2001). O sistema de cultivo aeropônico é similar, porém o fornecimento de nutrientes é feito pela

pulverização da solução nutritiva por meio de uma bomba de pressão ou pela rotação de pás, lançando pequenos jatos de solução nutritiva na direção das raízes (Hung; Sylvia, 1988; Habte; Osório, 2001).

Sistema de cultivo de raízes in vitro

Esporos ou raízes contendo estruturas de FMA são selecionados e desinfetados externamente (Cranembrouck et al., 2005; Nagahashi; Douds, 2005). A utilização de fragmentos de raízes é sugerida, pois trabalhos mostram que o potencial do inóculo é mais elevado em raízes colonizadas do que em esporos, muito em função da produção de compostos estimulantes do crescimento de hifas presentes nos exsudatos radiculares (Jolicoeur et al., 1999). Neste sistema, os fragmentos são transferidos para um meio de cultura em placas de Petri contendo raízes transformadas com Ri-T-DNA de *Agrobacterium rhizogenes* (Declerck et al., 1996). O crescimento inicial dos FMA *in vitro* pode ser mais reduzido, mas após a formação de arbúsculos e crescimento de hifas, se inicia uma grande produção de esporos, chegando a 750 esporos por semana por placa de Petri nos experimentos desenvolvidos por Declerck et al. (1996). São descritas diferentes formulações de meios de cultura, ajustando níveis de sódio, nitrogênio, fósforo, sacarose, zinco e manganês, utilizando ágar comerciais, além de antibióticos (Cranembrouck et al., 2005).

No entanto, não são claros os efeitos que a multiplicação *in vitro* promove sobre a efetividade dos propágulos de FMA crescidos nestes sistemas. No estudo de Calvet et al. (2013) foi multiplicado simultaneamente em sistema *in vitro* e *in vivo* um isolado de *R. irregularis* com o objetivo de avaliar o potencial infectivo e o crescimento do isolado multiplicado nestas diferentes condições. Neste estudo foram constatadas algumas diferenças significativas no sistema *in vitro*, como produção de esporos menores, redução do potencial infectivo no decorrer de ciclos consecutivos de multiplicação, além de não ser observada promoção do crescimento da planta quando inoculada com propágulos originados deste sistema de cultivo. A redução do potencial infectivo de gerações de inóculos produzidos *in vitro* já foi registrada por Plenchette et al. (1996), e estes efeitos podem estar associados a agentes ou fatores presentes no interior das raízes das plantas, ou ainda de bactérias associadas aos FMA, que podem estar diretamente relacionadas ao crescimento normal dos FMA (Bonfante; Anca, 2009).

Sistema de cultivo em biorreator

A possibilidade de produção de FMA em biorreatores surgiu após o estabelecimento de práticas de cultura de raízes transformadas *in vitro*. Baseando-se nessas técnicas, foi possível desenvolver condições de crescimento que viabilizassem a introdução de raízes e FMA em um sistema fechado de produção como os biorreatores. As raízes transformadas pré-inoculadas em placas de Petri são inseridas em um biorreator aerado ou agitado, suspensas em solução nutritiva com antibióticos e substâncias que estimulem o crescimento das raízes e FMA (Fortin et al., 1996; Jolicoeur et al., 1999).

Jolicoeur et al. (1999) descrevem as etapas de inoculação, produção e extração de esporos e raízes colonizadas em um sistema de cultivo em biorreator aerado, no qual, segundo os autores, é possível reproduzir estruturas viáveis de FMA capazes de reinocular outras plantas. Em outro sistema de multiplicação em biorreator, as raízes permanecem dentro de estruturas esféricas contendo diferentes

formas de fornecimento de nutrientes (Fortin et al., 1996). Há ainda estudos com suspensão e exsudatos de células vegetais (*Pueraria phaseoloides*) com potencial de estimular esporulação, crescimento de hifas e formação de células auxiliares em meio líquido. No entanto, este sistema não comprovou a capacidade de sustentar o crescimento por longos períodos (Paula; Siqueira, 1990).

Nestes sistemas (hidropônico, aeropônico, em placas de Petri e biorreator), o produto são raízes colonizadas muito limpas, que podem ser desidratadas e misturadas a materiais inertes para formulação de um produto. As características das espécies de FMA selecionadas para esses sistemas muitas vezes incluem esporulação interna às raízes, muito frequente em gêneros como *Glomus* e *Rhizophagus*, reduzindo as perdas de grandes quantidades de esporos para a solução nutritiva e meio de cultura. Por serem sistemas fechados são mais eficazes em controlar possíveis contaminações a partir de poeiras e insetos. Entretanto, geralmente são mais custosos, já que necessitam de energia, apresentam etapas de produção mais complexas, exigem pessoal treinado e monitoramento para evitar contaminações (Habte; Osório, 2001).

Todos os métodos possuem vantagens e desvantagens, e suas especificidades devem ser consideradas no momento de definir o melhor método para cultivar inóculos de FMA. Muitos ajustes ainda são necessários. Informações como tempo de cultivo, pH do substrato ou solução, espécie de FMA, definição de interações e recomendação entre espécies de FMA e plantas são bastante relevantes. Adicionalmente, custo de produção, espaço e eficiência da associação são relevantes para o desenvolvimento de um sistema de cultivo em escala industrial ou laboratorial, bem como mão de obra qualificada, visto que cada método de cultivo resulta em produtos com efetividade e formulações variadas (Vosátka et al., 2012; Calvet et al. 2013). O avanço destas etapas depende de metodologias de controle de qualidade e padronização de estudos, que garantam que o produto ofertado apresente resultados reais da associação com FMA.

Controle de qualidade e aplicação

A produção de inóculos em pequena e média escala é uma realidade, entretanto, como discutido na revisão de Vosátka et al. (2012), estes produtos nem sempre possuem certificação de qualidade e viabilidade, e com certa frequência são identificados produtos incapazes de estabelecer a simbiose micorrízica, sendo que muitas vezes os benefícios proporcionados advêm de outros microrganismos e substâncias presentes no produto (Nair et al., 1991; Faria et al., 2009; Santos et al., 2020). O sistema *in vitro* permite a obtenção de propágulos axênicos, com a facilidade de aplicação na pesquisa. Entretanto, é carente de outros microrganismos importantes para o crescimento dos FMA e estabelecimento da simbiose (Hoeksema et al., 2010; Vosátka et al., 2012; Clua et al., 2013).

Existem várias linhas de pesquisa que buscam determinar métodos moleculares seguros para identificar espécies de FMA, tanto em amostras de campo, quanto de produtos formulados, além da presença de outros microrganismos contaminantes. Entretanto, mais estudos para definir metodologias replicáveis e economicamente viáveis ainda são necessários.

Após a definição de etapas do processo produtivo, há a necessidade de desenvolver produtos para diferentes demandas e modos de aplicação, atendendo produtores de grãos, mudas, plantas de ciclo anual e perene (Vosátka et al., 2012). As formulações líquidas devem ser ajustadas à aplicação em

sistema de irrigação, cultivos hidropônicos, ou via jato dirigido em sulco de plantio, considerando todos os entraves de entupimento, densidade do líquido e precipitação de propágulos. A formulação em pó ou em gel pode ser utilizada para revestimento de sementes, raízes e estacas, e deve ser ajustada a práticas e processos já estabelecidos nos sistemas de cultivo. Independente da formulação, os produtos devem garantir facilidade no transporte, armazenamento e aplicação, especialmente em culturas de baixo valor agregado, focando em economia de fertilizantes químicos, água e pesticidas, garantindo produtividade que promova melhor custo-benefício aos produtores agrícolas (Vosátka et al., 2012).

Benefícios do manejo e inoculação em sistemas agrícolas

O manejo é um fator extremamente relevante na eficiência de inoculantes a base de FMA e nos resultados promovidos pela comunidade autóctone de cada local. Um dos grandes benefícios promovidos pela associação com FMA vem do crescimento das hifas, resultando em uma exploração de um volume maior do solo (Souza et al., 2011). Sendo assim, sistemas de manejo que adotem a conservação da estrutura do solo são recomendados para preservar o MER e os benefícios promovidos pela associação com FMA. A redução do revolvimento, a adoção de rotação de culturas e plantas de cobertura micorrízicas, podem levar a melhorias dos atributos biológicos e físicos do solo (Andrade; Silveira, 2004; Hossain, 2021). Isso destaca a importância de práticas de manejo para a cultura da soja que, em combinação com a fertilização moderada de P (visando apenas a reposição de nutrientes), preservem a rede de hifas no solo (Faggioli et al., 2020).

A manutenção e a preservação do micélio também irá promover a maior estabilidade dos agregados do solo (Rillig; Mummey; 2006) e, conseqüentemente, proteção da matéria orgânica, possibilitando até mesmo aumentar significativamente o estoque de carbono orgânico no solo (Hossain, 2021). Outro fator é que a movimentação do solo e quebra do micélio podem potencializar a seleção de espécies de FMA que produzam menos micélio e maior quantidade de esporos, promovendo uma redução da diversidade de espécies de FMA (Balota et al., 2014).

A avaliação da comunidade de FMA, além de uma investigação criteriosa das espécies presentes e da quantificação da densidade dos propágulos, deve ser agregada à informações sobre o manejo empregado, a temperatura, a precipitação, além da cobertura vegetal, pois são fatores que podem alterar a comunidade de FMA. A cobertura vegetal já se mostrou um fator importante para aumentar o percentual de colonização das plantas e incrementar em quase 30% a atividade de FMA, além de promover acréscimos na produtividade da soja em consórcio com milho (Sanclémente-Reyes et al., 2018). A diversificação de espécies vegetais permite que diferentes espécies de FMA se associem e produzam propágulos, enquanto que em monocultivos e sistemas onde não se pratica rotação de espécies vegetais, algumas espécies de FMA podem ser selecionadas (Balota et al., 2014).

Em experimento com a manutenção e a pré-inoculação com FMA (*G. etunicatum*, *G. fasciculatum* e *Scutellospora heterogama*) e o uso de plantas de cobertura (*Brachiaria brizantha*) antes do plantio em vasos, a soja se desenvolveu melhor com a pré inoculação de FMA em *B. brizantha* (Silva et al., 2006). Em outro trabalho, a presença de FMA em sistema de rotação de soja e capim-andropogon contribuiu para o crescimento da soja em 53% e 95%, respectivamente, mas os resultados

variaram de acordo com o tempo de cultivo, as estações seca e chuvosa, e o sistema de rotação utilizado (Miranda et al., 2005).

A colonização das plantas cultivadas também pode contribuir na tentativa de manter seu aporte de nutrientes quando em competição com espécies espontâneas. Esse efeito foi observado no trabalho de Fialho et al. (2016), que mostrou que em competição com *Urochloa decumbens*, *Eleusine indica* e *Bidens pilosa*, a soja teve colonização micorrízica maior. Entretanto, Cofré et al. (2018) avaliaram o potencial de colonização do solo de pastagem natural, comparado a outro manejo em rotação de culturas e monocultura de soja em semeadura direta, e constataram um comportamento completamente diferente em função de outros fatores que não apenas a cobertura vegetal e o sistema de rotação. Assim, fica claro que é preciso considerar o maior número de fatores que interferem neste processo entre os componentes do sistema solo-planta.

Até o momento, apenas um inoculante a base de fungo micorrízico arbuscular possui registro junto ao Ministério da Agricultura e Pecuária no Brasil. Esse inoculante tem como base propágulos da espécie de FMA *R. intraradices* em uma formulação em pó, e teve sua eficiência agrônômica comprovada por meio de testes a campo com soja e milho em cinco regiões edafoclimáticas distintas no território nacional (Stoffel et al., 2020a, 2020b). Nestes estudos, mostrou-se o potencial do melhor aproveitamento dos fertilizantes fosfatados com a inoculação de *R. intraradices*, possibilitando economia na aplicação de recursos não renováveis, além de aumentar o potencial produtivo da lavoura.

A literatura científica demonstra a complexidade das interações entre fatores bióticos e abióticos, e as limitações de interpretação de trabalhos tanto à campo quanto em ambientes controlados. A grande variação pode ser consequência de um efeito inibitório da maior fertilidade de solos com rotação de culturas em relação aos solos de monocultura, alterações químicas e adaptabilidade das espécies de FMA, composição da comunidade microbiana, sanidade das plantas cultivadas e produtos utilizados que podem inibir ou eliminar os FMA. Dessa forma, a inoculação com FMA não pode ser apresentada como a solução de todos os desafios que a produção agrícola enfrenta. Entretanto, a gama de benefícios que o crescimento e manutenção da comunidade de FMA no solo pode proporcionar para a qualidade do solo e segurança dos cultivos, dão suporte científico e econômico ao uso destes microrganismos na agricultura em larga escala (Vosátka et al., 2012).

Desafios e perspectivas

As associações mutualísticas entre plantas e microrganismos têm aplicações conhecidas, sendo as leguminosas, em especial a cultura da soja, o melhor exemplo de aplicação (ver Capítulos 8 e 9). Os avanços com o uso de bactérias são conhecidos, mas ainda há muitas perspectivas de novos ganhos com uso destes e outros microrganismos (Santos et al., 2019). O sucesso com as bactérias fixadoras de nitrogênio tem ampliado o leque de possibilidades de emprego de MPCP e, como visto, as micorrizas arbusculares são uma opção promissora considerando sua presença na maior parte das plantas e pela ubiquidade dos fungos. No entanto, apesar das amplas avaliações e discussões comprovando o potencial do uso e manejo dos FMA na agricultura, poucos são os produtos disponíveis no mercado. Essa contradição entre efeito e a viabilidade em escalas comerciais mostra que a pesquisa nesse tópico

ainda não está ajustada para responder aos interesses dos agricultores e dos produtores de insumos. Para compatibilizar tais interesses e viabilizar ganhos no setor produtivo é preciso: i) Encontrar inoculantes que se adaptem à diferentes condições, como tipos de solo, clima e manejo em que as culturas são produzidas; ii) Desenvolver formulações compatíveis com a aplicação conjunta das bactérias fixadoras de nitrogênio, sendo as suspensões, que podem ser aplicadas em formulações líquidas, uma alternativa promissora; iii) Realizar testes e estudos que levem em consideração aspectos econômicos, especialmente as relações custo/benefício da aplicação de inoculantes de FMA; iv) Estabelecer parâmetros específicos para qualificar inoculantes de FMA de modo a uniformizar e garantir a qualidade dos produtos; v) Estabelecer programas de pesquisa para que estudos de melhoramento vegetal e de fertilidade e manejo do solo levem em consideração a associação micorrízica e seus benefícios para a cultura da soja.

Referências

- ADEYEMI, N. O.; ATAYESE, M. O.; SAKARIYAWO, O. S.; AZEEZ, J. O.; OLUBODE, A. A.; RIDWAN, M.; ADEBIYI, A.; ONI, O.; IBRAHIM, I. Influence of different arbuscular mycorrhizal fungi isolates in enhancing growth, phosphorus uptake and grain yield of soybean in a phosphorus deficient soil under field conditions. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 52, n. 10, p. 1171-1183, 2011.
- ADEYEMI, N. O.; ATAYESE, M. O.; OLUBODEB, A. A.; AKAN, M. E. Effect of commercial arbuscular mycorrhizal fungi inoculant on growth and yield of soybean under controlled and natural field conditions. **Journal of Plant Nutrition**, v. 43, n. 4, p. 487-499, 2020.
- ANDRADE, F. R.; NÓBREGA, J. C. A.; NÓBREGA, R. S. A.; LUSTOSA FILHO, J. F.; ZUFFO, A. M.; MOREIRA, F. M. S. Mycorrhization stimulant in soybean associated with phosphate fertilization in oxisols. **Revista Caatinga**, v. 31, n. 4, p. 823-831, 2018.
- ANDRADE, S. A. L.; ABREU, C. A.; ABREU, M. F.; SILVEIRA, A. P. D. Interaction between lead, soil base saturation rate, and mycorrhiza on soybean development and mineral nutrition. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, n. 5, p. 945-954, 2003.
- ANDRADE, S. A. L.; SILVEIRA, A. P. D. Biomassa e atividade microbiana do solo sob influência de chumbo e da rizosfera da soja micorrizada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 12, p. 1191-1198, 2004.
- BAGO, B.; PFEFFER, P. E.; SHACHAR-HILL, Y. Carbon metabolism and transport in arbuscular mycorrhizas. **Plant Physiology**, v. 124, n. 3, p. 949-958, 2000.
- BALOTA, E. L.; MACHINESKI, O.; HONDA, I. F. U.; BARBOSA, G. M. C.; NAKATANI, S. S.; COYNE, M. S. Response of arbuscular mycorrhizal fungi in different soil tillage systems to long-term swine slurry application. **Land Degradation and Development**, v. 27, p. 1141-115, 2014.
- BIDONDO, L. F.; SILVANI, V.; COLOMBO, R.; PÉRGOLA, M.; BOMPADRE, J.; GODEAS, A. Pre-symbiotic and symbiotic interactions between *Glomus intraradices* and two *Paenibacillus* species isolated from AM propagules. *In vitro* and *in vivo* assays with soybean (AG043RG) as plant host. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 43, n. 9, p. 1866-1872, 2011.
- BONFANTE, P.; ANCA, I. A. Plants, mycorrhizal fungi, and bacteria: a network of interactions. **Annual Review of Microbiology**, v. 204, n. 2, p. 215-220, 2009.
- BONFANTE, P.; GENRE, A. Plants and arbuscular mycorrhizal fungi: an evolutionary-developmental perspective. **Trends in Plant Science**, v. 13, n. 9, p. 492-498, 2008.
- CALVET, C.; CAMPRUBI, A.; PÉREZ-HERNÁNDEZ, A.; LOVATO, P. E. Plant growth stimulation and root colonization potential of *in vivo* versus *in vitro* arbuscular mycorrhizal inocula. **Hortscience**, v. 48, n. 7, p. 897-901, 2013.
- CAVALCANTE, U. M. T.; GOTO, B. T.; MAIA, L. C. Aspectos da simbiose micorrízica arbuscular. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, v. 5, n. 6, p. 180-208, 2009.
- CLUA, A.; OLGIATI, J.; BELTRANO, J. Evaluación de la doble inoculación *Bradyrhizobium*-micorrizas y el uso de fitoterápicos de semilla en el crecimiento, eficiencia de inoculación y el rendimiento de un cultivo de soja. **Revista de Investigaciones Agropecuarias**, v. 39, n. 3, p. 250-258, 2013.
- COFRÉ, M.; NOELIA, U. C.; WALL, L. G.; DOMÍNGUEZ, L.; BECERRA, A. El potencial de colonización micorrízico-arbuscular varía entre prácticas agrícolas y sitios en diferentes áreas geográficas de la Región Pampeana. **Ecología Austral**, v. 28, n. 3, p. 581-592, 2018.

- CORBERA, J.; NÁPOLES, M. C. Evaluación de la inoculación conjunta *bradyrhizobium japonicum*-hongos micorrízicos arbusculares y la aplicación de un bioestimulador del crecimiento vegetal en soja cultivada en época de invierno. **Cultivos Tropicales**, v. 31, n. 4, 2010.
- CRANEMBROUCK, S.; VOETS, L.; BIVORT, C.; RENARD, L.; STRULLU, D. G.; DECLERCK, A. Methodologies for *in vitro* cultivation of arbuscular mycorrhizal fungi with root organs. In: DECLERCK, A.; STRULLU, D. G.; FORTIN J. A. **In vitro culture of mycorrhizas**. Berlin: Springer-Verlag, 2005. 392 p.
- DECLERCK, S.; STRULLU, D. G.; PLENCHETTEZ, C. In vitro mass-production of the arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus versiforme*, associated with Ri T-DNA transformed carrot roots. **Mycological Research**, v. 100, n. 10, p. 1237-1242, 1996.
- DOUDS, D. D.; PFEFFER, P. E.; SHACHAR-HILL, Y. Carbon partitioning, cost, and metabolism of arbuscular mycorrhizas. In: KAPULNIK, Y.; DOUDS, D. D. (eds) **Arbuscular mycorrhizas: physiology and function**. Dordrecht: Springer, 2000, p. 107-129.
- FAGGIOLI, V. S.; MARTA, C.; MARIANA, M. N.; FERNANDA, C. Contribución de hongos micorrízicos nativos a la nutrición fosforada y su impacto en la partición de fotoasimilados de soja. **Ciencia del Suelo**, v. 38, n. 1, p. 81-94, 2020.
- FARIA, T. M.; GOMES JÚNIOR, F. G.; SÁ, M. E.; CASSIOLATO, A. M. R. Efeitos alelopáticos de extratos vegetais na germinação, colonização micorrízica e crescimento inicial de milho, soja e feijão. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, n. 6, p. 1625-1633, 2009.
- FARIAS, C. P.; CARVALHO, R. C.; RESENDE, F. M. L.; AZEVEDO, L. C. B. Consortium of five fungal isolates conditioning root growth and arbuscular mycorrhiza in soybean, corn, and sugarcane. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, n. 4, p. 3649-3660, 2018.
- FERROL, N.; TAMAYO, E.; VARGAS, P. The heavy metal paradox in arbuscular mycorrhizas: from mechanisms to biotechnological applications. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 22, p. 6253-6265, 2016.
- FIALHO, C. M. T.; SILVA, G. S.; FAUSTINO, L. A.; CARVALHO, F. P.; COSTA, M. D.; SILVA, A. A. Mycorrhizal association in soybean and weeds in competition. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 38, n. 2, p. 171-178, 2016.
- FOLLI-PEREIRA, M. S.; MEIRA-HADDAD, L. S.; BAZZOLLI, D. M. S.; KASUYA, M. C. M. Micorriza arbuscular e a tolerância das plantas ao estresse. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, p. 1663-1679, 2012.
- FORTIN, J. A.; ST-ARNAUD, M.; HAMEL, C.; CHAVARIE, C.; JOLICOEUR, M. **United States Patent**. Aseptic *in vitro* endomycorrhizal spore mass production. Patent Number: 5,554,530. Date of Patent: Sep. 10, 1996.
- GHAHREMANI, M.; MACLEAN, A. M. Home sweet home: how mutualistic microbes modify root development to promote symbiosis. **Journal of Experimental Botany**, v. 72, n. 7, p. 2275-2287, 2021.
- GIACHERO, M. L.; MARQUEZ, N.; GALLOU, A.; LUNA, C. M.; DECLERCK, E.; DUCASSE, D. A. An *in vitro* method for studying the three-way interaction between soybean, *Rhizophagus irregularis* and the soil-borne pathogen *Fusarium virguliforme*. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. 1033, 2017.
- GIOVANNETTI, M.; AVIO, L.; SBRANA, C. Fungal spore germination and pre-symbiotic mycelial growth: physiological and genetic aspects. In: KOLTAI, H.; KAPULNIK, Y. **Arbuscular mycorrhizas: physiology and function**. Wageningen: Springer, 2010. p. 3-32.
- GOMES, E. A.; SILVA, U. de C.; OLIVEIRA-PAIVA, C. A.; LANA, U. G. de P.; MARRIEL, I. E.; SANTOS, V. L. dos. Microorganismos promotores do crescimento de plantas. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2016. 51 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Documentos, 208).
- GONZÁLEZ-CHAVÉZ, M. C.; CARRILLO-GONZÁLEZ, R.; WRIGHT, S. F.; NICHOLS, K. A. The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. **Environmental Pollution**, v. 130, n. 3, p. 317-323, 2004.
- HABTE, M.; OSORIO, N. W. **Arbuscular mycorrhizas: producing and applying arbuscular mycorrhizal inoculum**. Honolulu: CTAHR, c2001. 47 p. Disponível em: https://www.ctahr.hawaii.edu/oc/freepubs/pdf/amf_manual.pdf. Acesso em: 18 jan. 2022.
- HARRIS, D.; PACOVSKY, R. S.; PAUL, E. A. Carbon economy of soybean rhizobium-glomus associations. **New Phytologist**, v. 101, n. 3, p. 427-440, 1985.
- HODGE, A.; CAMPBELL, C. D.; FITTER, A. H. An arbuscular mycorrhizal fungus accelerates decomposition and acquires nitrogen directly from organic material. **Nature**, v. 413, p. 297-299, 2001.
- HOEKSEMA, J. D.; CHAUDHARY, V. B.; GEHRING, C. A.; JOHNSON, N. C.; KARST, J.; KOIDE, R. T.; PRINGLE, A.; ZABINSKI, C.; BEVER, J. D.; MOORE, J. C.; WILSON, G. W. T.; KLIRONOMOS, J. N.; UMBANHOWAR, J. A meta-analysis of context-dependency in plant response to inoculation with mycorrhizal fungi. **Ecology Letters**, v. 13, p. 394-407, 2010.
- HOSSAIN, M. B. Glomalin and contribution of glomalin to carbon sequestration in soil: a review. **Turkish Journal of Agriculture: Food Science and Technology**, v. 9, n. 1, p. 191-196, 2021.
- HUNG, L. L.; SYLVIA, D. M. Production of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus inoculum in aeroponic culture. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 54, n. 2, p. 353-357, 1988.
- JIE, W.; LIN, J.; GUO, N.; CAI, B.; YAN, X. Community composition of rhizosphere fungi as affected by *Funneliformis mosseae* in soybean continuous cropping soil during seedling period. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 79, n. 3, p. 356-365, 2019.

- JOLICOEUR, M.; WILLIAMS, R. D.; CHAVARIE, C.; FORTIN, J. A.; ARCHAMBAULT, J. Production of *Glomus intraradices* propagules, an arbuscular mycorrhizal fungus, in an airlift bioreactor. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 63, p. 224-232, 1999.
- LAMBAIS, M. R.; RAMOS, A. C. Sinalização e transdução de sinais em micorrizas arbusculares. In: SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil**, Lavras: UFLA, 2010. p. 119-132.
- LEIGH, J.; FITTER, A. H.; HODGE, A. Growth and symbiotic effectiveness of an arbuscular mycorrhizal fungus in organic matter in competition with soil bacteria. **FEMS Microbial Ecology**, v. 76, n. 3, p. 428-438, 2011.
- LI, Y.; LIU, Z.; HOU, H.; LEI, H.; ZHU, X.; LI, X.; HE, X.; TIAN, C. Arbuscular mycorrhizal fungi-enhanced resistance against *Phytophthora sojae* infection on soybean leaves is mediated by a network involving hydrogen peroxide, jasmonic acid, and the metabolism of carbon and nitrogen. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 35, p. 3465-3475, 2013.
- MADDOX, J. J.; SOILEAU, J. M. Effects of phosphate fertilization, lime amendments and inoculation with VA-mycorrhizal fungi in soybeans in an acid soil. **Plant and Soil**, v. 134, p. 83-93, 1991.
- MAIA, L. C.; PASSOS, J. H.; SILVA, J. A.; OEHL, F.; ASSIS, D. M. A. Species diversity of Glomeromycota in Brazilian biomes. **Sydowia**, v. 72, p. 181-205, 2020.
- MALTY, J. S.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Efeitos do glifosato sobre microrganismos simbióticos de soja, em meio de cultura e casa de vegetação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 2, p. 285-291, 2006.
- MANARA, A. Plant responses to heavy metal toxicity. In: FURINI, A. **Plants and Heavy Metals**: Springer Briefs in Molecular Science. Dordrecht: Springer, 2012.
- MARSCHNER, H.; DELL, B. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. **Plant and Soil**, v. 159, p. 89-102, 1994.
- MEENA, R. S.; VIJAYAKUMAR, V.; YADAV, G. S.; MITRAN, T. Response and interaction of *Bradyrhizobium japonicum* and arbuscular mycorrhizal fungi in the soybean rhizosphere. **Plant Growth Regulation**, v. 84, p. 207-223, 2018.
- MEGHVANSI, M. K.; MAHNA, S. K. Evaluating the symbiotic potential of *Glomus intraradices* and *Bradyrhizobium japonicum* in vertisol with two soybean cultivars. **American-Eurasian Journal of Agronomy**, v. 2 n. 1, p. 21-25, 2009.
- MEYER, E.; MORALES LONDONO, D. M.; ARMAS, R. D.; GIACHINI, A. J.; ROSSI, M. J.; STOFFEL, S. C. G.; SOARES, C. R. F. S. Arbuscular mycorrhizal fungi in the growth and extraction of trace elements by *Chrysopogon zizanioides* (Vetiver) in a substrate containing coal mine wastes. **International Journal of Phytoremediation**, v. 19, n. 2, p. 113-120, 2016.
- MILLER, R. M.; JASTROW, J. D. Mycorrhizal fungi influence soil structure. In: KAPULNIK, Y.; DOUDS, D. D. **Arbuscular mycorrhizas: physiology and function**. Dordrecht: Springer, 2000, p. 3-18.
- MIRANDA, J. C. C.; VILELA, L.; MIRANDA, L. N. Dynamics and contribution of arbuscular mycorrhiza in culture systems with crop rotation. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 10, p. 1005-1014, 2005.
- MOSSE, B. Some studies relating to "independent" growth of vesicular-arbuscular endophytes. **Canadian Journal of Botany**, v. 66, n. 12, p. 2533-2540, 1988.
- NAGAHASHI, G.; DOUDS Jr, D. D. In vitro development and physiology of glomeromycetes. In: DECLERCK, S.; STRULLU, D. G.; FORTIN, J. A. **In Vitro Culture of Mycorrhizas**. Berlin: Springer-Verlag, 2005, p. 95-108.
- NAIR, M. D.; SAFIR, G. R.; SIQUEIRA, J. O. Isolation and identification of vesicular-arbuscular mycorrhiza stimulatory compounds from clover (*Trifolium repens*) roots. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 57, p. 434-439, 1991.
- NOGUEIRA, M. A.; CARDOSO, E. J. B. E. Interações microbianas na disponibilidade e absorção de manganês por soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 11, p. 1605-1612, 2002.
- NOGUEIRA, M. A.; CARDOSO, E. J. B. N. Mycorrhizal effectiveness and manganese toxicity in soybean as affected by soil type and endophyte. **Scientia Agricola**, v. 60, n. 2, p. 329-335, 2003.
- NOGUEIRA, M. A.; CARDOSO, E. J. B. N. Phosphorus availability changes the internal and external endomycorrhizal colonization and affects symbiotic effectiveness. **Scientia Agricola**, v. 64, n. 3, p. 295-300, 2007.
- NOGUEIRA, M. A.; CARDOSO, E. J. B. N. Produção de micélio externo por fungos micorrízicos arbusculares e crescimento da soja em função de doses de fósforo. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 24, n. 2, p. 329-338, 2000.
- NOVAIS, C. B.; SBRANA, C.; JESUS, E. C.; ROUWS, L. F. M.; GIOVANNETTI, M.; AVIO, L.; SIQUEIRA, J. O.; SAGGIN, O. J.; SILVA, E. M. R.; FARIA, S. M. Mycorrhizal networks facilitate the colonization of legume roots by a symbiotic nitrogen-fixing bacterium. **Mycorrhiza**, v. 30, p. 389-396, 2020.
- NOVAIS, R. F.; SMYTH, T. J.; NUNES, F. N. Fósforo. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V., V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. **Fertilidade do Solo**. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 471-537.

- OLSSON, P. A.; WILHELMSSON, P. The growth of external AM fungal mycelium in sand dunes and in experimental systems. *Plant Soil*, v. 226, n. 161, p. 161-169, 2000.
- OLSSON, P.; THINGSTRUP, I.; JAKOBSEN, I.; BAATH, E. Estimation of the biomass of arbuscular mycorrhizal fungi in a linseed field. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 31, n. 13, p. 1879-1887, 1999.
- OWEN, D.; WILLIAMS, A. P.; GRIFFITH, G. W.; WITHERS, P. J. A. Use of commercial bio-inoculants to increase agricultural production through improved phosphorus acquisition. *Applied Soil Ecology*, v. 86, p. 41-54, 2015.
- PARIHAR, M.; RAKSHIT, A.; MEENA, V. S.; GUPTA, V. K.; RANA, K.; CHOUDHARY, M.; TIWARI, G.; MISHRA, P. K.; PATTANAYAK, A.; BISHT, J. K.; JATAV, S. S.; KHATI, P.; JATAV, H. S. The potential of arbuscular mycorrhizal fungi in C cycling: a review. *Archives of Microbiology*, v. 202, p. 1581-1596, 2020.
- PAULA, M. A.; SIQUEIRA, J. O. Stimulation of hyphal growth of the va mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* by suspension-cultured *Pueraria phaseoloides* cells and cell products. *New Phytologist*, v. 115, p. 69-75, 1990.
- PAVINATO, P. S.; CHERUBIN, M. R.; SOLTANGHEISI, A.; ROCHA, G.; CHADWICK, D. R.; JONES, D. L. Revealing soil legacy phosphorus to promote sustainable agriculture in Brazil. *Scientific Reports*, v. 10, n. 15615, 2020. 11 p.
- PEREIRA, M. O. G.; SANTOS, C. E. R. S.; FREITAS, A. D. S.; STAMFORD, N. P.; ROCHA, G. S. D. C.; BARBOSA, A. T. Interações entre fungos micorrízicos arbusculares, rizóbio e actinomicetos na rizosfera de soja. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 17, n. 12, p. 1249-1256, 2013.
- PLENCHETTE, C.; DECLERCK, S.; DIOP, T.; STRULLU, D. G. Infectivity of monoxenic subcultures of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus versiforme* associated with Ri-T-DNA-transformed carrot root. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 46, p. 545-548, 1996.
- PŮSCHEL, D.; JANOUŠKOVÁ, M.; VORÍŠKOVÁ, A.; GRYNDLEROVÁ, H.; VOSÁTKA, M.; JANSKA, J. Arbuscular mycorrhiza stimulates biological nitrogen fixation in Two *Medicago* spp. through improved phosphorus acquisition. *Frontiers in Plant Science*, v. 8, n. 390, p. 1-12, 2017.
- QIAN, L.; YU, W. J.; CUI, J. Q.; JIE, W. G.; CAI, B. Y. *Funneliformis mosseae* affects the root rot pathogen *Fusarium oxysporum* in soybeans. *Acta agriculturae Scandinavica - Soil and plant science*, v. 65, n. 4, p. 321-328, 2015.
- RILLIG, M. C. Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation. *Canadian journal of soil science*, v. 84, n. 4, p. 355-363, 2004.
- RILLIG, M. C.; MUMMEY, D. L. Mycorrhizas and soil structure. *New Phytologist*, v. 171, p. 41-53, 2006.
- RILLIG, M. C.; WRIGHT, S. F.; NICHOLS, K. A.; SCHMIDT, W. F.; TORN, M. S. Large contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon pools in tropical forest soils. *Plant Soil*, v. 233, p.167-177, 2001.
- SALGADO, F. H. E. M.; MOREIRA, F. M. S.; PAULINO, H. B.; SIQUEIRA, J. O.; CARNEIRO, M. A. C. Arbuscular mycorrhizal fungi and mycorrhizal stimulant affect dry matter and nutrient accumulation in bean and soybean plants. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v. 46, n. 4, p. 367-373, 2016.
- SANCLEMENTE-REYES, O. E.; PRAGER, M. S.; MOSQUERA, M. P. Prácticas agroecológicas, micorrización y productividad del intercultivo maíz - soja (*Zea mays* L. - *Glycine max* L.). *Idesia*, v. 36, n. 2, p. 217-224, 2018.
- SANTOS, J. V.; RIBEIRO, P. R. A.; CARNEIRO, M. A. B.; SOARES, I. C.; FIORINI, I. V. A.; CANCELLIER, L. L.; VEIGA, A. D.; ALBUQUERQUE, C. J. B.; PINHO, R. G. V.; MOREIRA, F. M. S. Formononetin accelerates mycorrhization and increases maize production at low phosphorus application rates. *Agrarian sciences, Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 92, 2020.
- SARPONG, C. K.; ZHANG, X.; WANG, Q.; WANG, W.; JAMALI, Z. H.; YONG, T.; CHANG, X.; YANG, W.; WANG, Y.; SONG, C. Improvement of plant microbiome using inoculants for agricultural production: a sustainable approach for reducing fertilizer application. *Canadian Journal of Soil Science*, v. 101, n. 1, p. 1-11, 2020.
- SASTRAHADAYAT, I. R.; DJAUHARI, S.; SALEH, N.; MUHIBUDDIN, A. Control of "damping off" disease caused by *Sclerotium rolfsii* Sacc. using actinomycetes and VAM fungi on soybean in the dry land based on microorganism diversity of rhizosphere zone. *Agrivita*, v. 33, n. 1, p. 40-46, 2011.
- SCHMITZ, A. M.; HARRISON, M. J. Signaling events during initiation of arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Journal of Integrative Plant Biology*, v. 56, n. 3, p. 250-261, 2014.
- SCHÜßLER, A.; SCHWARZOTT, D.; WALKER, C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research*, v. 102, n. 12, p. 1413-1421, 2001.
- SILVA, A. C.; SANTOS, J. B.; KASUYA, M. C. M.; SILVA, A. A.; MANABE, A. Mycorrhizal inoculation and desiccation timings of *Brachiaria brizantha* on soybean development. *Planta Daninha*, v. 24, n. 2, p. 271-277, 2006.
- SILVA, J. S.; CARVALHO, T. S.; SANTOS, J. V.; RIBEIRO, P. R. A.; MOREIRA, F. M. S. Formononetin stimulates mycorrhizal fungi colonization on the surface of active root nodules in soybean. *Symbiosis*, v. 71, p. 27-34, 2017.

- SIQUEIRA, J. O.; PEREIRA, M. A. M.; SIMÃO, J. B. P.; MOREIRA, F. M. S. Efeito da formononetina (7 hidróxi, 4^ometoxi isoflavona) na colonização micorrizica e crescimento do milho em solo contendo excesso de metais pesados. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 23, p. 561-567, 1999.
- SIQUEIRA, J. O.; SYLVIA, D. M.; GIBSON, J.; HUBBELL, D. H. Spores, germination, and germ tubes of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Canadian Journal of Botany*, v. 31, p. 965-972, 1985.
- SOUDZILOVSKAIA, N. A.; BODEGOM, P. M. V.; TERRER, C.; ZELFDE, M. V.; McCALLUM, I.; MCCOMACK, M. L.; FISHER, J. B.; BRUNDRETT, M. C.; SÁ, N. C. de; TEDERSOO, L. Global mycorrhizal plant distribution linked to terrestrial carbon stocks. *Nature Communications*, v. 10, n. 5077, 2019.
- SOUSA, C. S.; MENEZES, R. S. C.; SAMPAIO, E. V. S. B.; LIMA, F. S. Glomalina: características, produção, limitações e contribuição nos solos. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 33, n. 1, p. 3033-3044, 2012.
- SOUZA, F. A. de; GOMES, E. A.; VASCONCELOS, M. J. V. de; SOUSA, S. M. de. *Micorrizas arbusculares: perspectivas para aumento da eficiência de aquisição de fósforo (P) em Poaceae - gramíneas. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo*, 2011. 30 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Documentos, 134).
- SPAGNOLETTI, F.; CARMONA, M.; GOMEZ, N. E. T.; CHIOCCHIO, V.; LAVADO, R. S. Arbuscular mycorrhiza reduces the negative effects of *M. phaseolina* on soybean plants in arsenic-contaminated soils. *Applied Soil Ecology*, v. 121, p. 41-47, 2017.
- SPAGNOLETTI, F.; LAVADO, R. S. The arbuscular mycorrhiza *Rhizophagus intraradices* reduces the negative effects of arsenic on soybean plants. *Agronomy*, v. 5, p. 188-199, 2015.
- STOFFEL, S. C. G.; ARMAS, R. D.; GIACHINI, A. J.; ROSSI, M. J.; GONZALEZ, D.; MEYER, E.; NICOLEITE, C. H.; ROCHA-NICOLEITE, E.; SOARES, C. R. F. S. Micorrizas arbusculares no crescimento de leguminosas arbóreas em substrato contendo rejeito de mineração de carvão. *Cerne*, v. 22, n. 2, p. 181-188, 2016.
- STOFFEL, S. C. G.; SOARES, C. R. F. S.; MEYER, E.; LOVATO, P. E.; GIACHINI, A. J. Yield increase of soybean inoculated with a commercial arbuscular mycorrhizal inoculant in Brazil. *African Journal of Agricultural Research*, v. 16, n. 5, p. 702-713, 2020a.
- STOFFEL, S. C. G.; SOARES, C. R. F. S.; MEYER, E.; LOVATO, P. E.; GIACHINI, A. J. Yield increase of corn inoculated with a commercial arbuscular mycorrhizal inoculant in Brazil. *Ciência Rural*, v. 50, n. 7, e20200109, 2020b.
- TRUBER, P. V.; FERNANDES, C. Arbuscular mycorrhizal fungal communities and soil aggregation as affected by cultivation of various crops during the sugarcane fallow period. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 38, n. 2, p. 415-422, 2014.
- VARMA, A. *Mycorrhiza. State of the Art, Genetics and Molecular Biology, Eco-Function, Biotechnology, Eco-Physiology, Structure and Systematics*. 3th ed. Berlin: Springer-Verlag, 2008.
- VILELA, L. A. F.; SAGGIN-JÚNIOR, O. J.; PAULINO, H. B.; SIQUEIRA, J. O.; SANTOS, V. L. S.; CARNEIRO, M. A. C. Arbuscular mycorrhizal fungus in microbial activity and aggregation of a cerrado oxisol in crop sequence. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 38, n. 1, p. 34-42, 2014.
- VODNIK, D.; GRČMAN, H.; MACEK, I.; ELTEREN VAN, J. T.; KOVACENIC, M. The contribution of glomalin-related soil protein to Pb and Zn sequestration in polluted soil. *Science of the Total Environment*, v. 392, n. 1, p. 130-136, 2008.
- VOSÁTKA, M.; LÁTR, A.; GIANINAZZI, S.; ALBRECHTOVÁ, J. Development of arbuscular mycorrhizal biotechnology and industry: current achievements and bottlenecks. *Symbiosis*, v. 58, p. 29-37, 2012.
- WALLEY, F. L.; GILLESPIE, A. W.; ADETONA, A. B.; GERMIDA, J. J.; FARRELL, R. E. Manipulation of rhizosphere organisms to enhance glomalin production and C sequestration: pitfalls and promises. *Canadian Journal of Botany*, v. 94, n. 6, p. 1025-1032, 2014.
- WRIGHT, S. F.; GREEN, V. S.; CAVIGELLI, M. A. Glomalin in aggregate size classes from three different farming systems. *Soil and Tillage Research*, v. 94, p. 546-549, 2007.
- WRIGHT, S. F.; FRANKE-SNYDER, M.; MORTON, J. B.; UPADHYAYA, A. Time-course study and partial characterization of a protein on hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi during active colonization of roots. *Plant Soil*, v. 181, p. 193-203, 1996.
- WRIGHT, S. F.; UPADHYAYA, A. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Soil*, v. 198, p. 97-107, 1998.
- WRIGHT, S. F.; UPADHYAYA, A. Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Science*, v. 161, p. 575-586, 1996.
- YORK, L. M.; CARMINATI, A.; MOONEY, S. J.; RITZ, K.; BENNETT, M. J. The holistic rhizosphere: integrating zones, processes, and semantics in the soil influenced by roots. *Journal of Experimental Botany*, v. 67, n. 12, p. 3629-3643, 2016.

Bactérias envolvidas na mitigação do estresse hídrico

*Gileno Vieira Lacerda Júnior
Itamar Soares Melo*

Introdução

A seca é um dos fenômenos naturais que mais impactam a agricultura. O aumento da escassez de água como consequência das mudanças climáticas é um fator limitante que afeta a segurança alimentar em todo o planeta, visto que mais água será demandada na produção de alimentos para suprir uma população mundial em crescimento. O déficit hídrico é a causa primária de perda de culturas, reduzindo a produtividade média em mais de 50% (Boyer; Wesgate, 2004). No setor agrícola, imprescindível para o abastecimento mundial de alimentos, a agricultura irrigada é a atividade humana que mais demanda água. Em escala mundial, estima-se que o uso da água neste setor responda por cerca de 80% das derivações de água, enquanto no Brasil esse valor supera os 70% (Shiklomanov, 2000; Ercin; Horkstra, 2014).

A umidade adequada do solo é extremamente importante para o crescimento e desenvolvimento adequado das raízes, e conseqüente absorção de água e nutrientes. Estima-se que 30-60% da água total suprida aos solos em regiões semiáridas são perdidos com evaporação e as perdas de rendimento associadas ao estresse hídrico podem chegar a mais de 80% em muitas regiões do planeta (Cooper et al., 1983; Schultz, 1984). Em condições de seca, as plantas exibem uma reduzida taxa de crescimento foliar devido ao decréscimo na absorção de água, reduzindo também a capacidade fotossintética. No entanto, as plantas modulam muitas alterações metabólicas e fisiológicas em resposta ao estresse ocasionado por seca e/ou altas concentrações de sal. Água disponível, próxima à capacidade de campo, favorece as reações da solução do solo e reações microbianas, transporte de íons por difusão e fluxo de massa para as raízes e desenvolvimento de raízes. Todos esses processos são inibidos à medida que o solo seca em direção ao ponto de murcha. Se o déficit de água se torna mais grave, a maquinaria fotossintética é danificada, há alteração na expressão gênica e síntese proteica, falha na abertura estomática, ocasionando o retardo do crescimento e da produção vegetal (Siddalingaswamy et al., 2008).

As previsões ambientais apontam para o aumento do aquecimento global nas próximas décadas e, conseqüentemente, aumento dos períodos de seca, causando comprometimento no setor agrícola. Contudo, a maioria das nossas culturas, mormente, aquelas mais importantes economicamente, não

são tolerantes. Naturalmente, seus centros de origem não englobam regiões áridas do globo, como a soja, arroz, tomate, milho, entre outras. O melhoramento genético de plantas mais adaptadas à seca deve ser uma das estratégias mais promissoras, mas de longo prazo e oneroso. Entretanto, aconselha-se proceder a um manejo integrado, associando cultivares mais tolerantes e inoculantes a base de bactérias osmotolerantes para mitigar os efeitos da seca. Tomando-se esses cenários, percebe-se claramente a necessidade premente de desenvolvimento de tecnologias inovadoras, utilizando-se da inoculação de bactérias capazes de proteger as plantas dos efeitos danosos da falta de água e, conseqüentemente, reduzir o consumo de água em épocas de baixa pluviosidade.

Plantas que sobrevivem em ambientes extremos, como nas regiões áridas e semiáridas, podem alterar o seu microbioma associado em respostas às condições de seca e outros agentes estressores, selecionando um conjunto de microrganismos ideal para melhor desenvolvimento e sobrevivência. Dessa maneira, a exploração da biodiversidade visando à descoberta de novos bioestimulantes deve ser dirigida baseada nas interações ecológicas, onde o caráter tenha surgido como um processo natural de seleção nos habitats. As buscas devem priorizar novos organismos, pois a maioria dos microrganismos permanece desconhecida.

Interação planta-microrganismos em ambientes extremos

Os microrganismos presentes em solos com características especiais, como alta salinidade, ou sujeito a estresse hídrico ou térmico, podem apresentar mecanismos fisiológicos e genéticos responsáveis pela sobrevivência nesses ambientes, podendo também interagir de uma forma associativa ou beneficiar plantas em ambientes extremos. Essas características podem ser exploradas para a descoberta de novos genes, proteínas ou metabólitos importantes, com aplicação agrícola e/ou industrial. Plantas vasculares fornecem um nicho ecológico único para diversas comunidades microbianas simbióticas que, frequentemente, contribuem com benefícios múltiplos, como por exemplo, tolerância aos estresses abióticos.

Algumas espécies de plantas vasculares evoluíram no sentido de resistirem às condições ambientais extremas. Dentre os mecanismos pelos quais essas espécies toleram e se desenvolvem em condições extremas, inclui a síntese de osmólitos, fitohormônios, aquaporinas, substâncias antioxidantes, dentre outros. Os estresses abióticos têm inúmeros efeitos sobre a morfologia e fisiologia da planta e, são justamente estes os que mais afetam o crescimento das plantas. Temperatura, deficiência de água e salinidade têm sido considerados os principais fatores influenciados pelas mudanças climáticas com forte impacto na redução da produtividade agrícola. Entretanto, há cerca de 450 milhões de anos, a evolução de plantas terrestres ocorreu devido à associação simbiótica com microrganismos (Redecker et al., 2000). A continuidade dessas associações desde suas origens sugere que plantas não prosperam como indivíduos autônomos. Seus tecidos internos fornecem um ambiente ecológico único para diversas comunidades de microrganismos simbióticos que exercem grande influência na adaptação e evolução (Bacon; Hinton, 2002; Schardl, 2001). Sem a participação de endófitos, as plantas são incapazes de sobreviver em seus habitats nativos (Rodríguez; Redman, 2011). Esta simbiose resulta em um “superorganismo” capaz de tolerar diversos tipos de estresses num ecossistema no qual um componente isolado não poderia sobreviver. Nessa interação, as plantas sintetizam e secretam compostos orgânicos, como vitaminas, substâncias fenólicas, aminoácidos, açúcares e ácidos orgânicos que são usados como nutrientes pela microbiota associada. Por sua vez, os

microrganismos associados liberam hormônios vegetais, proteínas, mucilagens e compostos orgânicos voláteis que auxiliam no seu desenvolvimento. Essas associações benéficas têm despertado o interesse da agroindústria em utilizar linhagens osmotolerantes como inoculantes para mitigar os efeitos da seca em diversas espécies de plantas. Os endofíticos e rizobactérias associadas, tolerantes aos estresses abióticos, têm sido alvo de estudos por estarem envolvidos na produção de exopolissacarídeos, ácidos orgânicos, enzimas, gomas, reguladores de crescimento de plantas, além de participarem na fixação de nitrogênio e solubilização do fosfato, entre outros.

Os grupos de microrganismos que colonizam a rizosfera incluem bactérias, fungos e arqueias. Portanto, a microbiota associada às plantas, representa uma fonte inesgotável de ativos para uso na agricultura. Nesse sentido, é premente o aproveitamento desses recursos microbianos para o desenvolvimento de estratégias de mitigação dos impactos da seca em culturas agrícolas suscetíveis, principalmente em regiões com limitada precipitação. Uma das abordagens que têm tido bastante sucesso é a descoberta de bactérias que podem colonizar o sistema radicular, sendo altamente competitivas com a microbiota nativa, protegendo as plantas dos efeitos adversos da seca por meio de diversos mecanismos de ação (Figura 1).

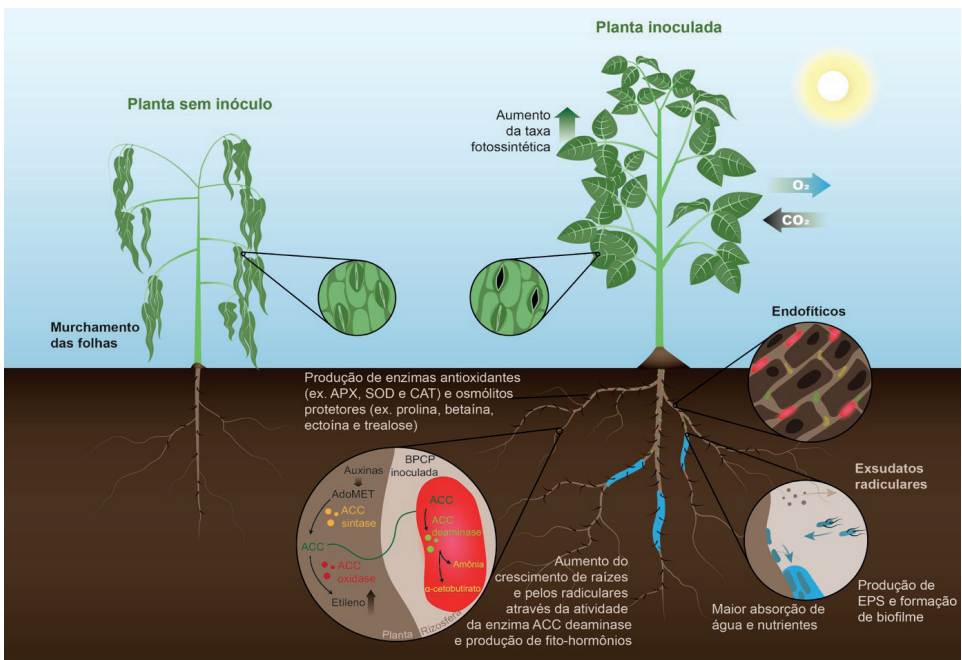


Ilustração: Raoni Rebouças

Figura 1. Ilustração dos mecanismos de tolerância à seca induzidos por rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (RPCP). RPCP são capazes de produzir fitohormônios que influenciam na condutância estomática, crescimento e arquitetura das raízes. A atividade da enzima ACC deaminase bacteriana impacta a via de biossíntese do etileno, estimulando o crescimento radicular. A produção de exopolissacarídeos (EPS) e formação de biofilmes na superfície das raízes protegem as plantas do dessecamento, aumentando a absorção de água e nutrientes. Os osmólitos (e.g. prolina, betaina, ectoína e trealose) sintetizados protegem e estabilizam a membrana celular em condições de estresse hídrico, enquanto as enzimas antioxidantes (e.g. APX, SOD e CAT) combatem a produção de radicais livres.

Mecanismos de tolerância à seca mediados por microrganismos

Em ambientes extremos, somente aqueles organismos adaptados, os “extremófilos”, sobrevivem. Há uma variedade de plantas vasculares que prosperam em ambientes desérticos. Muitas dessas espécies vegetais possuem estratégias morfológicas e fisiológicas que garantiram sua adaptação e sobrevivência em ambientes hostis. Entretanto, nenhuma espécie de planta é um organismo autônomo, abrigando comunidades microbianas benéficas associadas aos diversos tecidos que garantem sua sobrevivência a várias condições de estresse através da formação de biofilmes, produção de exopolissacarídeos (EPS), osmólitos intracelulares, enzimas antioxidantes, indução de fatores genéticos, entre outros (Chaves et al., 2002; Monier; Lindow, 2003).

Produção de substâncias antioxidantes

Nas plantas a seca induz a formação de radicais livres, como ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e radicais hidroxilas, que causam danos oxidativos aos componentes celulares, aos lipídeos e às proteínas (Lawlor; Cornic, 2002). Todavia, plantas mais tolerantes desenvolvem certos sistemas de defesa que impedem o acúmulo dos radicais livres, reduzindo os efeitos adversos da seca (Miller et al., 2010). Quando inoculadas em culturas agrícolas, algumas espécies de bactérias osmotolerantes que habitam ambientes extremos, como *Bacillus* spp. e *Streptomyces* spp., podem induzir, substancialmente, a produção de algumas enzimas antioxidantes, como catalase, superóxido dismutase e glutatona, que melhoram o sistema de defesa e aumentam a tolerância da planta em condições de seca. Há vários exemplos bem sucedidos da aplicação de bactérias em sementes para proteção contra danos celulares e acúmulo de espécies de oxigênio reativo em culturas agrícolas. Recomenda-se a revisão de Vurukonda et al. (2016) que traz exemplos de espécies bacterianas envolvidas nesse processo.

Produção de osmólitos compatíveis na tolerância hídrica

Bactérias acumulam pequenas moléculas orgânicas em respostas ao estresse hídrico, que são denominadas de osmólitos compatíveis. Elas atuam de modo a aumentar a pressão osmótica citoplasmática, evitando a perda de água para o meio e na estabilização de proteínas e membranas (McNeil et al., 1999). O osmólito ectoína atua na estabilização proteica contra alta temperatura, congelamento e desidratação (Lippert; Galinski, 1992). Há outros extremólitos como hidroxietoína, manossilglicerato e DGP com as mais diversas funções (Lentzen; Schwarz, 2006). Os osmólitos podem ser açúcares como sorbitol, mio-inositol, trealose; aminoácidos como glicina, taurina, prolina, metilaminas como as betaínas (Yancey, 2001). Esses osmólitos podem ser acumulados em caso de resposta à dessecação. McIntyre et al. (2007) concluíram que a trealose acumulada intracelularmente, além de proteger as células de *Rhizobium leguminosarum* contra a dessecação também protege contra o estresse durante a nodulação. *Azospirillum brasilense* portando um plasmídeo com gene responsável pela biossíntese de trealose foi capaz de crescer em concentrações salinas elevadas. (Rodríguez-Salazar et al., 2009). A aplicação de trealose também melhorou a tolerância de milho ao estresse hídrico pela regulação de atributos de relações hídricas, fotossintéticas e de mecanismos de defesa (Ali; Ashraf, 2011).

Produção de exopolissacarídeos (EPS)

Bactérias também apresentam outras propriedades especiais de adaptação à seca, como a produção de exopolissacarídeos (EPSs), formando biofilmes na superfície das raízes que hidratam e protegem as plantas do dessecação, assim como ajudam na fixação de minerais e nutrientes (Barreto et al., 2011; Liu et al., 2013). A produção de EPS é um mecanismo que oferece proteção celular contra diferentes condições ambientais. Muitos EPSs são conhecidos por serem altamente hidratados devido à incorporação e conservação de água em sua estrutura. Desta forma, rizobactérias produtoras podem atuar de modo benéfico para o crescimento da planta e aumentar a tolerância à dessecação (Naseem et al., 2018). Por exemplo, Ashraf e colaboradores (2004) observaram uma redução na absorção de sódio, promoção de crescimento e mitigação do estresse salino ao inocularem plântulas de trigo com bactérias capazes de produzir EPS. Em outro trabalho, a co-inoculação de duas linhagens bacterianas produtoras de EPS, *Bacillus subtilis* e *Azospirillum brasilense*, conferiu melhoria em parâmetros morfológicos, fisiológicos e bioquímicos no trigo submetido à seca.

A produção de EPS no ambiente rizosférico e radicular facilita a manutenção de um microambiente mais hidratado, protegendo a planta contra a desidratação. A seleção de linhagens bacterianas com potencial de produzir EPS pode ser feita diretamente em meios de cultivo, contendo altas concentrações de polietilenoglicol ou sorbitol, de modo a simular os efeitos da falta de água no ambiente (Kavamura et al., 2013). A Figura 2 mostra uma placa de Petri contendo meio de cultivo com alta concentração de sorbitol e diferentes colônias bacterianas produzindo EPS.



Foto: João Paulo Ventura.

Figura 2. Meio de cultivo enriquecido com sorbitol para seleção de linhagens bacterianas osmotolerantes que produzem exopolissacarídeos (EPS)

O papel das aquaporinas no aumento da tolerância de plantas à seca

As aquaporinas (AQPs) englobam uma classe de proteínas integrais de membrana que regulam o movimento da água e outras pequenas moléculas através das membranas vacuolares e plasmáticas das plantas (Moshelion et al., 2015). O controle do fluxo de água através das membranas celulares é realizado pela abertura e fechamento dos canais de aquaporinas encontrados em diversas partes das plantas (Bramley et al., 2009; Zhao et al., 2008). Neste contexto, o papel dessas proteínas tem ganhado destaque na agricultura, pois sua atividade interfere diretamente em processos fisiológicos que estão associados à tolerância de plantas a estresses abióticos (Aharon et al., 2003; Li et al., 2014).

Estudos genéticos indicam que a regulação da expressão de genes da aquaporina atua em diferentes tecidos das plantas, desempenhando um papel crucial na tolerância ao estresse hídrico. Com uma primeira evidência, Yamaguchi e colaboradores (1992) demonstraram que a expressão do gene de aquaporina AtPIP2-3 foi responsiva à seca em *Arabidopsis thaliana*. Grondin et al. (2016) descobriram que uma regulação diferencial das aquaporinas em seis variedades de arroz estava à maior tolerância ao estresse hídrico em alguns destes genótipos. Plantas transgênicas de tabaco super expressando o gene de aquaporina (TaAQP8) oriundo de trigo apresentam um maior alongamento das raízes durante o estresse salino, não apenas por reter uma maior proporção de K^+/Na^+ , mas também por melhorar o sistema antioxidante (Hu et al., 2012). Diante disso, abordagens utilizando engenharia genética e métodos convencionais de melhoramento têm focado no desenvolvimento de culturas mais tolerantes. Apesar dos esforços significativos, a complexidade dos aspectos biológicos inerente às respostas relacionadas ao estresse hídrico e salino (morfológicas, bioquímicas e fisiológicas) limita o sucesso no desenvolvimento de plantas mais tolerantes.

Como alternativa para o limitado sucesso na transferência de transgênicos para o campo, pode-se explorar os benefícios das funções inerentes da interação planta-microrganismos em direção à melhoria no rendimento da cultura no campo. É bem documentado que a inoculação de bactérias pode interferir positivamente na manutenção do balanço hídrico e aquisição de nutrientes em plantas (Kavamura et al., 2013; Marasco et al., 2013; Pii et al., 2015; Qin et al., 2016; Chen et al., 2016; Bononi et al., 2020). Entretanto, poucos estudos investigaram a relação entre o efeito da inoculação de bactérias benéficas e a expressão de genes de aquaporina na mitigação do estresse. De forma pioneira, Alguacil e colaboradores (2009) demonstraram como a inoculação com uma rizobactéria, *Pseudomonas mendocina*, modula de forma positiva a expressão do gene PIP2 em plantas de alface sem condição de estresse, mas sem efeito em condições de seca. Por outro lado, plantas de milho inoculadas com uma linhagem de *B. megaterium* apresentaram maior crescimento radicular, área foliar e conteúdo relativo de água em resposta ao estresse salino. Foi verificado que modificações na expressão dos genes de aquaporina ZmPIP1 e ZmPIP2 na raiz podem ser uma via chave da resposta ao sal pelo milho. No entanto, mecanismos específicos envolvidos nessa regulação ainda precisam ser investigados (Marulanda et al., 2010). A inoculação de *Azospirillum brasilense* Az39 em plantas de cevada desencadeou a transcrição do gene HvPIP2, envolvido na síntese de canais de água das raízes, mitigando o estresse salino. (Zawoznik et al., 2011). Outro exemplo revela como a colonização radicular por *Pseudomonas agglomerans*, isolado de raiz do teosinto (um ancestral do milho), induz tolerância ao sal em milho tropical através da regulação positiva de genes da aquaporina

(PIP2 and ZmPIP1-1) (Gond et al., 2015). Este estudo aponta que a associação das raízes com inoculantes bacterianos pode induzir a tolerância ao sal e aumentar o crescimento de culturas em solos salinos. No entanto, os mecanismos envolvidos na regulação positiva de genes de aquaporina induzida por *P. agglomerans* ainda são desconhecidos. Mais pesquisas são necessárias para entender exatamente como a regulação da atividade de aquaporinas nos diversos tecidos mediada por microrganismos levam ao aumento da tolerância à seca e estresse salino em plantas. Fungos benéficos também têm efeitos na expressão da aquaporina. A influência do fungo micorrízico arbuscular (AM), *Rhizophagus irregularis* e do estresse hídrico na expressão do gene da aquaporina (AQP), também foi investigada na leguminosa acácia-bastarda (*Robinia pseudoacacia* L.). A simbiose com AM aumentou a tolerância à seca em plantas tratadas através da regulação da expressão dos genes de aquaporina (RpAQP), com incremento na biomassa, condutância estomática e taxa fotossintética (He et al., 2016). Da mesma forma, foi demonstrado que a simbiose micorrízica melhora a tolerância do milho suscetível à seca em diferentes cenários de estresse hídrico, regulando uma ampla gama de aquaporinas (ZmPIP1;6, ZmPIP2;2, and ZmTIP4;1) (Quiroga et al., 2017).

Evidências crescentes revelam o papel crucial das aquaporinas na regulação precisa do movimento da água e consequente tolerância ao estresse hídrico. Como a seca afeta a produção agrícola em todo o mundo, as aquaporinas atuam como moléculas candidatas-chave para enfrentar este problema. Os resultados demonstram que a prospecção e utilização de novos inoculantes, com a funcionalidade de interferir na regulação gênica de aquaporinas, pode fornecer um recurso sustentável para melhorar a eficiência no uso da água e reduzir perda da produtividade de cultivares no campo.

Técnicas para mitigação do estresse hídrico

A seca tem exigido esforços de pesquisadores na busca de novas tecnologias e estratégias para se melhorar a produtividade agrícola em condições limitadas de água. Uma estratégia bastante promissora, prática e rápida para mitigação dos efeitos da seca é o uso de bactérias simbióticas, osmotolerantes, obtidas de regiões áridas e semiáridas. Em uma revisão recente, apontamos o potencial para a exploração de novos inoculantes microbianos a partir de plantas que sobrevivem em ambientes semi-áridos, especialmente florestas secas submetidas à sazonalidade, como no bioma Caatinga (Bonatelli et al., 2021). Nessa direção, já existem vários trabalhos demonstrando o sucesso na utilização de inoculantes.

A inoculação de plantas com bactérias com atividade da enzima ACC deaminase pode reduzir o estresse induzido pela produção de etileno, uma vez que a molécula ACC (1-aminociclopropane-1-carboxylate) é precursora deste hormônio (Saleem et al., 2007). Plantas tolerantes ao estresse hídrico enviam sinais para que elas parem seu crescimento. Esses sinais enviados aos tecidos são o resultado da produção do gás etileno. Para produção desse hormônio, a planta sintetiza nas raízes uma substância chamada ACC (ácido 1-aminociclopropano-L-carboxílico), que se transloca das raízes até a parte aérea onde é convertida em etileno. Já há diversos relatos demonstrando a importância dessa substância quanto à proteção de plantas. Arshad et al. (2008) ao inocularem duas linhagens de rizobactérias produtoras de ACC deaminase em ervilha submetidas ao estresse hídrico, observaram que as linhagens reduziram significativamente os efeitos impostos pela seca com relação ao crescimento e à produtividade. Similarmente, Rodríguez-

Salazar et al. (2009) inocularam *Azospirillum brasilense* geneticamente modificado e capaz de acumular trealose sob altas concentrações salinas em plantas de milho, observando que 85% das plantas de milho inoculadas sobreviveram ao estresse hídrico, além de terem sua biomassa aumentada em 73%. Como exemplos, pode-se reportar que plantas de tomate inoculadas com *Achromobacter piechaudii* resultaram em contínuo crescimento vegetal durante estresse salino (Mayak et al., 2004); e inóculos de *Pseudomonas* sp. reduziram o efeito negativo da seca em plantas de girassol (Sandhya et al., 2010) e em trigo (Kanwal et al., 2017). A inoculação de plantas com linhagens de rizobactérias tem resultado na proteção contra os efeitos adversos do estresse hídrico (Saharan; Nehra, 2011). Tripathi et al. (1998) reportaram que acumula *Azospirillum* sp. solutos compatíveis, tais como o glutamato, prolina, glicina betaína e trealose em resposta à salinidade/osmolaridade. Plantas de sorgo inoculadas com *Azospirillum* apresentam maior conteúdo de água, maior potencial de água e menor temperatura foliar. Assim, elas ficam menos estressadas que as plantas não inoculadas. Sherameti et al. (2008) reportaram que o endófito *Piriformospora indica* coloniza raízes conferindo tolerância à seca em *Arabidopsis* por estimular a expressão de genes relacionados ao estresse hídrico em folhas. Esses trabalhos destacam a importância de microrganismos na indução de tolerância em plantas quanto a estresses ambientais e potencial de prover aumento de rendimento agrícola de forma responsiva, associada ao melhoramento genético de plantas.

Recentemente, nosso grupo de pesquisa isolou bactérias associadas às cactáceas do bioma Caatinga que apresentam o diferencial de promover o crescimento de plantas sob condições sub-ótimas de água (Kavamura et al., 2012). A Figura 3 mostra o efeito de uma bactéria, isolada da Caatinga, na proteção de plantas de soja quando cultivadas em solos com 30% da capacidade de campo. Em especial, uma bactéria identificada como *Bacillus aryabhatai* foi capaz de promover crescimento de plantas por produzir hormônios de crescimento e osmólitos compatíveis. Recentemente, foi registrado um bioestimulante, tendo como princípio ativo essa espécie de bactéria, que é capaz de mitigar os efeitos da seca, bem como aumentar significativamente sua biomassa, área foliar e tamanho da haste. Esforços também têm sido empregados por nossa equipe em compreender a dinâmica da comunidade microbiana em solo e rizosfera de *Cereus jamacaru*, em resposta aos períodos sazonais de seca e chuva do bioma Caatinga (Kavamura et al., 2013).

No entanto, essas estratégias são pontuais e acabam por limitar-se às condições de cada inóculo produzido, não fornecendo resultados exportáveis para locais com diferentes condições e comunidades microbianas.

Contribuição do microbioma na tolerância das plantas ao estresse hídrico

Como descrito acima, os bioinoculantes são compostos de uma espécie ou de um coquetel de microrganismos que podem ser aplicados na semente, solo e/ou diretamente na planta para beneficiar seu desenvolvimento e/ou aumentar a resistência a patógenos. A introdução de um único genótipo microbiano nem sempre apresenta resultados consistentes, provavelmente por constituir uma simplificação da funcionalidade que deriva das associações existentes entre planta-micróbios associados. O desenvolvimento de inoculação é um processo que exige recursos que nem sempre resulta em um



Foto: Iamar Soares de Melo

Figura 3. Efeitos da inoculação de uma bactéria osmotolerante em plantas de soja em condição de estresse hídrico. A planta à direita da foto foi inoculada com *Bradyrhizobium* sp. e um *Bacillus* sp. osmotolerante isolado das raízes de uma cactácea do bioma Caatinga, enquanto a planta à esquerda recebeu apenas tratamento com *Bradyrhizobium* sp., uma bactéria fixadora de nitrogênio. Seis dias após serem submetidas ao estresse hídrico, as plantas não inoculadas iniciaram o processo de murchamento.

produto comercial, dada a variabilidade das interações de vários fatores bióticos e abióticos no campo (Da Costa et al., 2014). Esta estratégia é particularmente vulnerável, porque o sucesso da inoculação depende totalmente da sobrevivência, estabelecimento e desempenho de uma única cepa, que poderia ser superada pelo microbioma residente até mesmo dentro de uma semana (Thomas; Sekhar, 2016)

Com o avanço de técnicas moleculares e de sequenciamento de DNA desenvolvidos nas últimas décadas foi possível verificar que as plantas hospedam um rico e diverso conjunto de microrganismos (principalmente bactérias, fungos e arqueias) na rizosfera, endosfera, superfícies foliares (filoplano) e outros tecidos. Estes microrganismos, chamados coletivamente de “microbioma” (Berg et al., 2020), interagem de forma sinérgica e podem influenciar positivamente na fisiologia e no metabolismo da planta, aquisição de nutrientes, proteção contra patógeno e tolerância contra estresses abióticos (Grover et al., 2011; Mendes et al., 2011; Berendsen et al., 2012). Uma alternativa para superar algumas incertezas acerca da inoculação individual de espécies é buscar ferramentas focadas no estabelecimento de comunidades microbianas com funções específicas.

O papel da exsudação radicular na seleção do microbioma

Os membros bacterianos e fúngicos do microbioma da raiz podem estabelecer associações comensais, patogênicas e benéficas com seu hospedeiro. Novas descobertas revelam um papel fundamental dos

exsudatos radiculares na comunicação com o microbioma da rizosfera (área do solo sob influência bioquímica das raízes). A grande diversidade da comunidade microbiana do solo é o reservatório inicial a partir da qual as plantas recrutam ativamente os micróbios para suas raízes (Edwards et al., 2015; Coleman-Derr et al., 2016). Em uma primeira etapa, a estrutura e composição da comunidade da rizosfera de uma planta são mediadas pela exsudação de compostos complexos de carbono (C), mucilagem, células da borda da raiz descamada e hormônios de sinalização, o que cria condições ricas em nutrientes para o crescimento microbiano. Em uma segunda etapa, os fatores genéticos da planta hospedeira medeiam a produção de diferentes compostos de sinalização para o recrutamento de um subconjunto de micróbios em diferentes compartimentos em torno das raízes (Jones et al., 2009; Bulgarelli et al., 2013; Turner et al., 2013; Hartman; Tringe, 2019).

Dessa forma, as plantas podem recrutar uma comunidade microbiana benéfica do solo que facilita seu crescimento em condições de seca por meio de alterações no padrão de exsudação radicular (Fitzpatrick et al., 2018; Liu et al., 2020; Williams; De Vries, 2020). Esta resposta varia dependendo da espécie hospedeira, e a estruturação dessa comunidade associada às raízes determinará sua resposta funcional durante o estresse hídrico. Por exemplo, o microbioma radicular de angiosperma responde diferentemente à seca e, o enriquecimento de gênero *Streptomyces* está diretamente relacionado à maior mitigação dos efeitos causados pelo déficit hídrico, por meio de ajuste osmótico ou promovendo o aumento da produção de substâncias antioxidantes (Fitzpatrick et al., 2018). Estes resultados enfatizam a importância funcional da variação nos microbiomas radiculares para um melhor desempenho da planta em resposta a estressores abióticos. Entretanto, ainda é necessário desvendar os mecanismos genéticos e fisiológicos subjacentes aos benefícios relacionados ao aumento da abundância de espécies da Família Streptomycetaceae na planta hospedeira sob seca.

O enriquecimento de grupos bacterianos monodérmicos (pertencentes ao filo Actinobacteria) do microbioma radicular de sorgo (*Sorghum bicolor*) também foi correlacionado com mudanças no perfil metabólico da raiz em condições de estresse hídrico. Raízes desidratadas foram, significativamente, enriquecidas com carboidratos e aminoácidos e, principalmente, pelo composto glicerol-3-fosfato (G3P), precursor da biossíntese de peptidoglicanos. O sequenciamento do RNA microbiano (metatranscriptômica) da rizosfera revelou incremento de genes associados ao transporte de G3P, principalmente em actinobactérias, além do aumento da atividade transcricional de gêneros bacterianos conhecidos pela capacidade de promoção de crescimento em plantas (Xu et al., 2018). Para determinar a contribuição do enriquecimento de actinobactérias no fenótipo do hospedeiro, duas linhagens fluorescentes do filo Actinobacteria, *Streptomyces coelicolor* Sc1 e *Streptomyces ambofaciens* Sc2, e uma de Proteobacteria, *Pseudomonas syringae* Ps1, representantes enriquecidas e suprimidas pela seca, respectivamente, foram isoladas e inoculadas em solo pré-esterilizado em sistema gnotobiótico contendo mudas de sorgo. Análises de qPCR e microscopia confocal demonstraram uma maior colonização e consequente indução de crescimento radicular pelas linhagens de *Streptomyces* após tratamento osmótico (Xu et al., 2018).

Estes resultados demonstraram o efeito de alterações metabólicas dos exsudatos radiculares na sinalização e modulação do microbioma, resultando no recrutamento de taxa de bacterianos específicos com atividade transcricional promotora do aumento na tolerância à seca. Embora pequenos avanços

tenham sido adquiridos, ainda se destaca a falta de pesquisas focadas na caracterização dos exsudatos radiculares de variedades agrícolas sob condições de seca. Isso certamente se deve aos enormes desafios metodológicos relacionados à coleta e análise de exsudatos de raízes de um ambiente de solo nativo com centenas de metabólitos primários e secundários quimicamente complexos (Oburger; Jones, 2018; Canarini et al., 2019). Assim, o desenvolvimento de novas técnicas para caracterizar e quantificar os exsudatos de raízes torna-se chave para elucidar a estreita relação entre plantas relevantes para a agricultura e o seu microbioma na mitigação de estresses ambientais.

Potencial de práticas de manipulação do microbioma na mitigação do estresse hídrico

Nos últimos anos, nossa compreensão do papel do microbioma na saúde e na resposta das plantas às adversidades ambientais avançaram consideravelmente. Dada sua contribuição substancial na aptidão da planta hospedeira, a exploração e manipulação de microbiomas complexos surgem como ferramenta crucial para o desenvolvimento de agroecossistemas mais eficientes e sustentáveis. No entanto, traduzir esse conhecimento em tecnologias e práticas agrícolas é desafiado pela complexidade intrínseca deste sistema biológico.

Trabalhar com microbiomas inteiros em vez de um ou mais isolados apresentam algumas vantagens, como abranger a extensa gama de funções relacionadas às interações planta-micróbios. Além disso, esses microbiomas abrigam tanto microrganismos cultiváveis, como a maioria (que pode chegar a 99%) dos que ainda não podem ser cultivados em meios de cultivo sintético (Torsvik; Øvreås, 2002). Uma microbiota específica pode estar associada a certos atributos fenotípicos, conseqüentemente, os efeitos do manejo agrícola na modulação da microbiota afetarão as características e o desempenho da planta (Mendes et al., 2011; Liu et al., 2020). Esta é uma alternativa à inoculação por consórcio único.

As estratégias atuais para a manipulação do microbioma de plantas se baseiam em três pilares principais: (i) introdução e engenharia de microbiomas, (ii) melhoramento e engenharia da planta hospedeira, e (iii) seleção de práticas agrícolas que melhoram a qualidade do solo e as comunidades microbianas associadas às plantas (Tosi et al., 2020). Compreender como as práticas culturais influenciam o microbioma da planta pode levar a estratégias para modular o microbioma da planta em uma direção desejada.

Um método cada vez mais explorado é transferir microbiomas (obtidos de solo ou de plantas) adaptados a certas condições ambientais naturais, ou criadas artificialmente. A transferência de microbiomas também pode superar limitações relacionadas às formulações de inoculantes, seja nas etapas de trabalho e custo intensivo de isolamento, triagem e teste, bem como na incerteza associada à transição de condições *in vitro* para condições de campo (Backer et al., 2018). Nesse sentido, resultados mais consistentes são esperados quando o microbioma transferido já demonstrou desempenho funcional desejado no hospedeiro particular.

Existem inúmeras razões potencialmente responsáveis pelo sucesso limitado e baixa reprodutibilidade dos inoculantes microbianos no campo. Deve-se considerar que os microrganismos no ambiente receptor são altamente diversos e bem adaptados e que um microrganismo introduzido não é capaz de competir suficientemente com a microbiota residente. Mesmo diante disso, a capacidade competitiva de uma linhagem de inoculante geralmente não é um critério de seleção (Compant et al., 2019).

A maioria dos estudos é realizada com transferência de comunidades microbianas do solo, esperando benefícios das interações com um melhor microbioma da rizosfera ou colonização por bactérias endofíticas. Microbiomas radiculares e rizosféricos podem ser enriquecidos *in vitro* e aplicados para estimular o crescimento da planta através do incremento da atividade da nitrogenase e produção e hormônios vegetais (Vanegas; Uribe-Vélez, 2014). Efeitos no crescimento da planta também podem ser esperados com a inoculação de microbiomas para restaurar a funcionalidade de solos degradados (Wubs et al., 2016). A inoculação ou transplante de microbiomas de solos naturais ou adaptados artificialmente também tiveram efeitos substanciais nas respostas à seca (Lau; Lennon, 2012). Da mesma forma, microbiomas com histórico de exposição a certas espécies de plantas (ou seja, microbioma simpátrico) podem também ser recuperados e transferidos para aumentar a tolerância da planta hospedeira ao estresse hídrico (Zolla et al., 2013).

A manipulação do microbioma de cultivares representa uma estratégia promissora e sustentável para lidar com muitos dos desafios que a seca representa para a produtividade agrícola. Melhor entendimento das interações microbio-planta durante a seca oferece um enorme potencial para aumentar a resiliência da produção agrícola. Esforços de pesquisa para viabilizar a utilização apropriada de técnicas agrícolas de manipulação do microbioma devem se concentrar em culturas de interesse agrícola e serem testados em condições naturais de campo.

Considerações Finais

Diante das previsões climáticas, a seca tem se tornado um grave problema para a agricultura mundial e segurança alimentar. As plantas podem alterar o seu microbioma em respostas a diferentes agentes estressores como, por exemplo, a seca, altas temperatura e salinidade; recrutando rizobactérias que beneficiam o hospedeiro com a síntese de moléculas osmoprotetoras, enzimas antioxidantes, fitohormônios e agentes reguladores do metabolismo. Espécies microbianas bem adaptadas a estas condições, com novos mecanismos para promoção do crescimento de plantas, podem ser utilizadas para o desenvolvimento de novos bioativos envolvidos na mitigação do estresse hídrico. Ademais, bactérias apresentando múltiplas características benéficas abrigam um reservatório de genes de interesse para o melhoramento genético de plantas.

Referências

- ALGUACIL, M. M.; KOHLER, J.; CARAVACA, F.; ROLDÁN, A. Differential effects of *Pseudomonas mendocina* and *Glomus intraradices* on lettuce plants physiological response and aquaporin PIP2 gene expression under elevated atmospheric CO₂ and drought. **Microbial Ecology**, v. 58, n. 4, p. 942-51, 2009.
- ALI, Q.; ASHRAF, M. Induction of drought tolerance in maize (*Zea mays* L.) due to exogenous application of trehalose: growth, photosynthesis, water relations and oxidative defence mechanism. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 197, n. 4, p. 258- 271, 2011.
- ARSHAD, M.; SHAHAROONA, B.; MAHMOOD, T. Inoculation with *Pseudomonas* spp. Containing ACC-Deaminase Partially Eliminates the Effects of Drought Stress on Growth, Yield, and Ripening of Pea (*Pisum sativum* L.). **Pedosphere**, v. 18, n. 5, p. 611-620, 2008.
- ASHRAF, M.; HASNAIN, S.; BERGE, O.; MAHMOOD, T. Inoculating wheat seedlings with exopolysaccharide-producing bacteria restricts sodium uptake and stimulates plant growth under salt stress. **Biology and Fertility of Soils**, v. 40, n. 3, p. 157-162, 2004.

- BACKER, R.; ROKEM, J. S.; ILANGUMARAN, G.; LAMONT, J.; PRASLICKOVA, D.; RICCI, E.; SUBRAMANIAN, S.; SMITH, D. L. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Context, Mechanisms of Action, and Roadmap to Commercialization of Biostimulants for Sustainable Agriculture. **Frontiers in Plant Science**, v. 23, n. 9, p. 1473, 2018.
- BACON, C. W.; HINTON, D. M. Endophytic and biological control potential of *Bacillus mojavensis* and related species. **Biological Control**, v. 23, n. 3, p. 274-284, 2002.
- BARRETO, M. C. S.; FIGUEIREDO, M. V. B.; BURITY, H. A.; SILVA, M. L. R. B.; LIMA-FILHO, J. L. Produção e comportamento reológico de biopolímeros produzidos por rizóbios e caracterização genética. **Revista Brasileira Agrobiologia**, v. 17, n. 2-4, p. 221-227, 2011.
- BERENDSEN, R. L.; PIETERSE, C. M.; BAKKER, P. A. The rhizosphere microbiome and plant health. **Trends in Plant Science**, v. 17, n. 8, p. 478 - 486, 2012.
- BERG, G.; RYBAKOVA, D.; FISCHER, D.; CERNAVA, T.; VERGÈS, M. C.; CHARLES, T.; CHEN, X.; COCOLIN, L.; EVERSOLE, K.; CORRAL, G. H.; KAZOU, M.; KINKEL, L.; LANGE, L.; LIMA, N.; LOY, A.; MACKLIN, J. A.; MAGUIN, E.; MAUCLINE, T.; MCCLURE, R.; MITTER, B.; RYAN, M.; SARAND, I.; SMIDT, H.; SCHEKLE, B.; ROUME, H.; KIRAN, G. S.; SELVIN, J.; SOUZA, R. S. C.; VAN OVERBEEK, L.; SINGH, B.K.; WAGNER, M.; WALSH, A.; SESSITSCH, A.; SCHLOTTER, M. Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. **Microbiome**, v. 30, n. 8, p. 103, 2020.
- BONATELLI, M. L.; LACERDA-JÚNIOR, G. V.; DOS REIS JUNIOR, F. B.; FERNANDES-JÚNIOR, P. I.; MELO, I. S.; QUECINE, M.C. Beneficial Plant-Associated Microorganisms from Semiarid Regions and Seasonally Dry Environments: A Review. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, n. 11, 2021.
- BONONI, L.; CHIARAMONTE, J. B.; PANSA, C. C.; MOITINHO, M. A.; MELO, I. S. Phosphorus-solubilizing *Trichoderma* spp. from Amazon soils improve soybean plant growth. **Scientific Reports**, v. 18, n. 10, 2020.
- BOYER, J. S.; WESTGATE M. E. Grain yields with limited water. **Journal of Experimental Botany**, v.55, n.407, p 2385-2394, 2004.
- BRAMLEY, H.; TURNER, N. C.; TURNER, D. W.; TYERMAN, S. D. Roles of morphology, anatomy, and aquaporins in determining contrasting hydraulic behavior of roots. **Plant Physiology**, v. 150, n. 1, p. 348-364, 2009.
- BULGARELLI, D.; SCHLAEPPI, K.; SPAEPEN, S.; VAN THEMAAT, E. V. L.; SCHULZE-LEFERT, P. Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 64, p. 807-838, 2013.
- CANARINI, A.; KAISER, C.; MERCHANT, A.; RICHTER, A.; WANEK, W. Root exudation of primary metabolites: mechanisms and their roles in plant responses to environmental stimuli. **Frontiers in Plant Science**, v. 21, n. 10, p. 157, 2019.
- CHAVES, M. M.; PEREIRA, J. S.; MAROCO, J.; RODRIGUES, M. L.; RICARDO, C. P. P.; OSÓRIO, M. L.; CARVALHO, I.; FARIA, T.; PINHEIRO, C. How plants cope with water stress in the field. Photosynthesis and Growth. **Annals of Botany**, v. 89, p. 907-916, 2002.
- CHEN, L.; LIU, Y.; WU, G.; VERONICAN NJERI, K.; SHEN, Q.; ZHANG, N.; ZHANG, R. Induced maize salt tolerance by rhizosphere inoculation of *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9. **Plant Physiology**, v. 158, p. 34-44, 2016.
- COLEMAN-DERR, D.; DESGARENNES, D.; FONSECA-GARCIA, C.; GROSS, S.; CLINGENPEEL, S.; WOYKE, T.; NORTH, G.; VISEL, A.; PARTIDA-MARTINEZ, L. P.; TRINGE, S. G. Plant compartment and biogeography affect microbiome composition in cultivated and native *Agave* species. **New Phytology**, v. 209, p. 798-811, 2016.
- COMPANT, S.; SAMAD, A.; FAIST, H.; SESSITSCH, A. A review on the plant microbiome: Ecology, functions, and emerging trends in microbial application. **Journal of Advanced Research**, v. 20, n. 19, p. 29-37, 2019.
- DA COSTA, P. B.; GRANADA, C. E.; AMBROSINI, A.; MOREIRA, F.; DE SOUZA, R.; DOS PASSOS, J. F.; ARRUDA, L.; PASSAGLIA, L. M. A model to explain plant growth promotion traits: a multivariate analysis of 2,211 bacterial isolates. **PLOS One**, v. 9, n. 12, p. 1-25, 2014.
- EDWARDS, J.; JOHNSON, C.; SANTOS-MEDELÍN, C.; LURIE, E.; PODISHETTY, N. K.; BHATNAGAR, S.; EISEN, J. A.; SUNDARESAN, V. Structure, variation, and assembly of the root-associated microbiomes of rice. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, n. 8, 2015.
- ERCIN, A. E.; HOEKSTRA, A. Y. Water footprint scenarios for 2050: a global analysis. **Environment International**, v. 64, p. 71-82, 2014.
- FITZPATRICK, C. R.; COPELAND, J.; WANG, P. W.; GUTTMAN, D. S.; KOTANEN, P. M.; JOHNSON, M. T. J. Assembly and ecological function of the root microbiome across angiosperm plant species. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 115, E1157-E1165, 2018.
- GOND, S. K.; TORRES, M. S.; BERGEN, M. S.; HELSEL, Z.; WHITE, J. F. Induction of salt tolerance and up-regulation of aquaporin genes in tropical corn by rhizobacterium *Pantoea agglomerans*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 60, p. 392-399, 2015.
- GRONDIN, A.; MAULEON, R.; VADEZ, V.; HENRY, A. Root aquaporins contribute to whole plant water fluxes under drought stress in rice (*Oryza sativa* L.). **Plant Cell Environment**, v. 39, p. 347-365, 2016.
- GROVER, M.; ALI, S. K. Z.; SANDHYA, V.; RASUL, A.; VENKATESWARLU, B. Role of microorganisms in adaptation of agriculture crops to abiotic stresses. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 27, n. 5, p. 1231-1240, 2011.

- HARTMAN, K.; TRINGE, S. G. Interactions between plants and soil shaping the root microbiome under abiotic stress. **The Biochemical Journal**, v. 476, n. 19, p. 2705-2724, 2019.
- HE, F.; ZHANG, H.; TANG, M. Aquaporin gene expression and physiological responses of *Robinia pseudoacacia* L. to the mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis* and drought stress. **Mycorrhiza**, v. 26, n. 4, p. 311-23, 2016.
- HU, W.; YUAN, Q.; WANG, Y.; CAI, R.; DENG, X.; WANG, J.; ZHOU, S.; CHEN, M.; CHEN, L.; HUANG, C.; MA, Z.; YANG, G.; HE, G. Overexpression of a wheat aquaporin gene, TaAQP8, enhances salt stress tolerance in transgenic tobacco. **Plant and Cell Physiology**, v. 53, n. 12, p. 2127-2141, 2012.
- JONES, D. L.; NGUYEN, C.; FINLAY, R. D. Carbon flow in the rhizosphere: carbon trading at the soil-root interface. **Plant and Soil**, v. 321, p. 5-33, 2009.
- KANWAL, S.; ILYAS, N.; BATOOL, N.; ARSHAD, M. Amelioration of drought stress in wheat by combined application of PGPR, compost, and mineral fertilizer. **Journal of Plant Nutrition**, v. 40, p. 1250-1260, 2017.
- KAVAMURA, V. N.; SANTOS, S. N.; SILVA, J. L.; PARMA, M. M.; AVILA, L. A.; VISCONTI, A.; ZUCCHI, T. D.; TAKETANI, R. G.; ANDREOTE, F. D.; MELO, I. S. Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. **Microbiological Resource**, v. 168, n. 4, p. 183-191, 2013.
- LAU, J. A.; LENNON, J. T. Rapid responses of soil microorganisms improve plant fitness in novel environments. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 35, p. 14058-14062, 2012.
- LAWLOR, D. W.; CORNIC, G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. **Plant, Cell & Environment**, v. 25, p. 275-294, 2002.
- LENTZEN, G.; SCHWARZ, T. Kompatible Solute: Mikrobielle Herstellung und Anwendung. In: ANTHRANIKIAN, G. (Ed.) **Angewandte Mikrobiologie**. v. 7, n. 2, p. 355-372, 2006.
- LI, G.; SANTONI, V.; MAUREL, C. Plant aquaporins: roles in plant physiology. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1840, n. 5, p. 1574-1582, 2014.
- LIPPERT, K.; GALINSKI, E. Enzyme stabilization by ectoine-type compatible solutes: protection against heating, freezing and drying. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 37, p. 61-65, 1992.
- LIU, S.; CHEN, X.; HE, H.; ZHANG, X.; XIE, B.; YU, Y.; CHEN, B.; ZHOU, B.; ZHANG, Y. Structure and ecological roles of a novel exopolysaccharide from the arctic sea ice bacterium *Pseudolateromonas* sp. Strain SM20310. **Applied and Environmental Microbiology**, v.79, n.1 p.224-230, 2013.
- LIU, H.; BRETTELL, L. E.; QIU, Z.; SINGH, B. K. Microbiome-mediated stress resistance in plants. **Trends in Plant Science**, v. 25, n. 8, p. 733-743, 2020.
- MARASCO, R.; ROLLI, E.; VIGANI, G.; BORIN, S.; SORLINI, C.; OUZARI, H.; ZOCCHI, G.; DAFFONCHIO, D. Are drought-resistance promoting bacteria cross-compatible with different plant models? **Plant Signaling & Behavior**, v. 8, n. 10, e26741, 2013.
- MARULANDA, A.; AZCON, R.; CHAUMONT, F.; RUIZ-LOZANO, J. M.; AROCA, R. Regulation of plasma membrane aquaporins by inoculation with a *Bacillus megaterium* strain in maize (*Zea mays* L.) plants under unstressed and salt-stressed conditions. **Planta**, v. 232, n. 2, p. 533-543, 2010.
- McINTYRE, H. J.; DAVIES, H.; HORE, T. A.; MILLER, S. H.; DUFOUR, J.-P.; RONSON, C. W. Trehalose biosynthesis in *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* and its role in desiccation tolerance. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 12, p. 3984-3992, 2007.
- McNEIL, S. D.; NUCCIO, M. L.; HANSON, A. D. Betaines and related osmoprotectants. Targets for metabolic engineering of stress resistance. **Plant Physiology**, v. 120, p. 945-949, 1999.
- MENDES, R.; KRUIJT, M.; DE BRUIJN, I.; DEKKERS, E.; VAN DER VOORT, M.; SCHNEIDER, J. H.; PICENO, Y. M.; DESANTIS, T. Z.; ANDERSEN, G. L.; BAKKER, P. A.; RAAIJMAKERS, J. M. Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria. **Science**, v. 27; n. 332, p. 1097-1100, 2011.
- MILLER, G.; SUSUKI, N.; CIFTCI-YILMAZ, S.; MITTLER, R. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. **Plant, Cell & Environment**, v. 33, p. 453-467, 2010.
- MONIER, J.-M.; LINDOW, S. E. Differential survival of solitary and aggregated bacterial cells promote aggregate formation on leaf surfaces. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 100, n. 26, p. 15977-15982, 2003.
- MOSHELION, M.; HALPERIN, O.; WALLACH, R.; OREN, R. A. M.; WAY, D. A. Role of aquaporins in determining transpiration and photosynthesis in water-stressed plants: crop water-use efficiency, growth and yield. **Plant, Cell & Environment**, v. 38, p. 1785-1793, 2015.

- NASEEM, H.; AHSAN, M.; SHAHID, M. A.; KHAN, N. Exopolysaccharides producing rhizobacteria and their role in plant growth and drought tolerance. **Journal of Basic Microbiology**, v. 58, n. 12, p. 1009-1022, 2018.
- OBURGER, E.; JONES, D. L. Sampling root exudates—mission impossible? **Rhizosphere**, v. 6, p. 116-133, 2018.
- PII, Y.; MIMMO, T.; TOMASI, N.; TERZANO, R.; CESCO, S.; CRECCHIO, C. Microbial interactions in the rhizosphere: beneficial influences of plant growth promoting rhizobacteria on nutrient acquisition process. A review. **Biology and Fertility of Soils**, v. 51, p. 403-415, 2015.
- QIN, Y.; DRUZHININA, I. S.; PAN, X.; YUAN, Z. Microbially mediated plant salt tolerance and microbiome-based solutions for saline agriculture. **Biotechnology Advances**, v. 34, p. 1245-1259, 2016.
- QUIROGA, G.; ERICE, G.; AROCA, R.; CHAUMONT, F.; RUIZ-LOZANO, J. M. Enhanced Drought Stress Tolerance by the Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis in a Drought-Sensitive Maize Cultivar is Related to a Broader and Differential Regulation of Host Plant Aquaporins than in a Drought-Tolerant Cultivar. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, 1056, 2017.
- REDECKER, D.; KODNER, R.; GRAHAM, L. E. Glomalean fungi from the Ordovician. **Science**, v. 289, p. 1920-1921, 2000.
- REDMAN, R. S.; KIM, Y. O.; WOODWARD, C. J.; GREER, C.; ESPINO, L.; DOTY, S. L.; RODRIGUEZ, R. J. Increased fitness of rice plants to abiotic stress via habitat adapted symbiosis: a strategy for mitigating impacts of climate change. **PLOS One**, v. 6, e14823, 2011.
- RODRÍGUEZ-SALAZAR, J.; SUÁREZ, R.; CABALLERO-MELLADO, J.; ITURRIAGA, G. Trehalose accumulation in *Azospirillum brasilense* improves drought tolerance and biomass in maize plants. **FEMS Microbiology Letters**, n. 296, v.1, p. 52-59, 2009.
- SALEEM, M.; ARSHAD, M.; HUSSAIN, S.; BHATTI, A. S. Perspective of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 34, n. 10, p. 635-648, 2007.
- SANDHYA, V.; ALI, S. Z.; VENKATESWARLU, B.; REDDY, G.; GROVER, M. Effect of osmotic stress on plant growth promoting *Pseudomonas* spp. **Archives of Microbiology**, v. 192, n. 10, p. 867-876, 2010.
- SCHARDL, C. L. Epichloe festucae and related mutualistic symbionts of grasses. **Fungal Genetics and Biology**, v. 3, p. 69-82, 2001.
- SHERAMETI, I.; TRIPATHI, S.; VARMA, A.; OELMÜLLER, R. The root-colonizing endophyte *Piriformospora indica* confers drought tolerance in Arabidopsis by stimulating the expression of drought stress-related genes in leaves. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 21, p. 799-807, 2008.
- SHIKLOMANOV, I. A. Appraisal and assessment of world water resources. **Water International**, v. 25, n. 1, p. 11-32, 2000.
- THOMAS, P.; SEKHAR, A. C. Effects Due to Rhizospheric Soil Application of an Antagonistic Bacterial Endophyte on Native Bacterial Community and Its Survival in Soil: A Case Study with *Pseudomonas aeruginosa* from Banana. **Frontiers in microbiology**, v.7, p.1-16, 2016.
- TORSVIK, V.; ØVREÅS, L. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. **Current Opinion in Microbiology**, v. 5, n. 3, p. 240-245, 2002.
- TOSI, M.; MITTER, E. K.; GAIERO, J.; DUNFIELD, K. It takes three to tango: the importance of microbes, host plant, and soil management to elucidate manipulation strategies for the plant microbiome. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 66, n. 7, p. 413-433, 2020.
- TRIPATHI, A. K.; MISHRA, B. M. Responses of *Azospirillum brasilense* to salinity stress. In: MALIK, K. A.; MIRZA, M. S.; LADHA, J. K. (Eds.) **Nitrogen Fixation with Non-Legumes**. Developments in Plant and Soil Sciences. Dordrecht: Springer. v. 79, 1998. p.179-185.
- TURNER, T.; JAMES, E.; POOLE, P. The plant microbiome. **Genome Biology**, v. 14, n. 209, 2013.
- VANEGAS, J.; URIBE-VÉLEZ, D. Selection of mixed inoculants exhibiting growth-promoting activity in rice plants from undefined consortia obtained by continuous enrichment. **Plant and Soil**, v. 375, p. 215-227, 2014
- VURUKONDA, S. S. K. P.; VARDHARAJULA, S.; SHRIVASTAVA, M.; SKZ, A. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological Research**, v. 184, p. 13-24, 2016.
- WILLIAMS, A.; DE VRIES, F. T. Plant root exudation under drought: implications for ecosystem functioning. **New Phytology**, v. 225, p. 1899-1905, 2020.
- WUBS, E. R. J.; VAN DER PUTTEN, W. H.; BOSCH, M.; BEZEMER, T. M. Soil inoculation steers restoration of terrestrial ecosystems. **Nature Plants**, v. 2, n. 8, p. 1-5, 2016.
- XU, L.; NAYLOR, D.; DONG, Z.; SIMMONS, T.; PIERROZ, G.; HIXSON, K. K.; KIM, Y. M.; ZINK, E. M.; ENGBRECHT, K. M.; WANG, Y.; GAO, C.; DEGRAAF, S.; MADERA, M. A.; SIEVERT, J. A.; HOLLINGSWORTH, J.; BIRDSEYE, D.; SCHELLER, H. V.; HUTMACHER, R.; DAHLBERG, J.; JANSSON, C.; TAYLOR, J. W.; LEMAUX, P. G.; COLEMAN-DERR, D. Drought delays development of the sorghum root microbiome and enriches for monoderm bacteria. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 115, n. 18, E4284-E4293, 2018.

YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; KOIZUMI, M.; URAO, S.; SHINOZAKI, K. Molecular cloning and characterization of 9 cDNAs for genes that are responsive to desiccation in *Arabidopsis thaliana*: sequence analysis of one cDNA clone that encodes a putative transmembrane channel protein. **Plant and Cell Physiology**, v. 33, p. 217-224, 1992.

YANCEY, P. H. Water stress, osmolytes and proteins. **American Zoologist**, v. 41, p. 699-709, 2001.

ZAWOZNIK, M. S.; AMENEIROS, M.; BENAVIDES, M. P.; VÁZQUEZ, S.; GROPPA, M. D. Response to saline stress and aquaporin expression in *Azospirillum*-inoculated barley seedlings. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 90, p. 1389-1397, 2011.

ZOLLA, G.; BADRI, D. V.; BAKKER, M. G.; MANTER, D. K.; VIVANCO, J. M. Soil microbiomes vary in their ability to confer drought tolerance to *Arabidopsis*. **Applied Soil Ecology**, v. 68, p. 1-9, 2013.

Solos supressivos a doenças

Murillo Lobo Junior

Renan Macedo

Priscila Ferreira dos Santos-Goulart

Introdução

Solos supressivos são solos nos quais a incidência ou a severidade de doenças permanecem baixas, apesar da presença de um determinado patógeno, sua planta hospedeira suscetível e condições ambientais favoráveis para o desenvolvimento de doenças (Baker; Cook, 1974). Este conceito parece distante da realidade atual das áreas cultivadas intensivamente com *commodities* onde se acumulam perdas de produtividade causadas por doenças radiculares, em áreas infestadas que excedem 10 milhões de hectares no Brasil, apenas com *Sclerotinia sclerotiorum* (Meyer et al., 2018). Porém, sabe-se que os solos têm propriedades que podem regular e suprimir patógenos habitantes do solo em nível variado, e que esta capacidade altamente desejável pode ser desenvolvida nos sistemas produtivos (Bongiorno et al., 2019) para proteger as plantas e aumentar produtividades, sem exigir uma dependência proporcional de insumos químicos.

As mudanças negativas em vários componentes do solo são facilmente perceptíveis com o passar dos anos, quando o manejo dos agroecossistemas é decidido somente por critérios econômicos. Nestas condições, ocorre o acúmulo de patógenos com destaque para espécies de fungos e de fitonematoides, além de mudanças em outros componentes que potencializam a ocorrência de doenças, como a compactação do solo e perda de matéria orgânica. Nestas condições, chega-se à situação oposta, definida como solos *conducivos* a doenças.

As principais propriedades dos solos supressivos foram definidas por Baker e Cook (1974) para os casos em que o patógeno não se estabelece ou persiste; se estabelece mas causa pouco ou nenhum dano; a severidade ou incidência da doença permanece baixa e perde importância. A percepção deste fato no campo é, na verdade, bem mais antiga e feita atualmente com comparações diversas entre solos arenosos e argilosos, mais ricos ou pobres em matéria orgânica, e com níveis variáveis de nutrientes (Figura 1).

Solos supressivos são uma das formas de controle biológico conservativo de doenças, quando antagonistas e outros microrganismos endêmicos devem ser conservados e estimulados, e promovem a “supressão” em si (Eilemberg et al., 2001). Há outras formas de compreender as questões de proteção

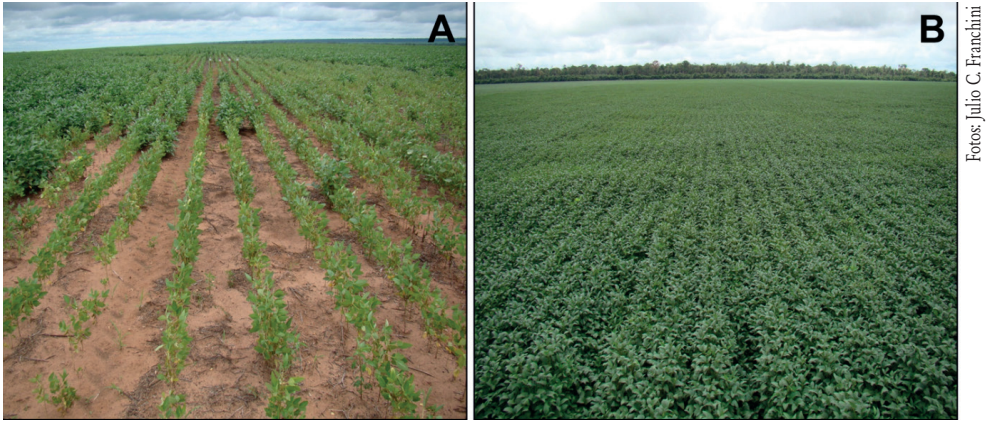


Figura 1. População e danos de *Pratylenchus brachyurus* em soja cultivada sobre solos de diferentes texturas em Nova Ubiratã (MT). A: solo arenoso com 16.800 nematoides/planta na safra 2010/2011 e 19.400 nematoides/planta em 2011/2012; B: 16.800 nematoides/planta em 2010/2011 e 20.800 nematoides/planta em 2011/2012.

de plantas e sustentabilidade agrícola, como avaliações da “qualidade do solo” ou da “saúde do solo”, explorados em demandas que têm se tornado mais populares, como “agricultura regenerativa” ou “intensificação ecológica”. Estes termos não são sinônimos, porém há sobreposição entre os seus escopos e suas definições podem ser úteis para uma melhor discussão sobre a sustentabilidade agrícola (Tabela 1). Como há muitas possibilidades de estudos envolvendo os solos cultivados, as abordagens e termos podem variar de acordo com o interesse, sendo que vamos dar ênfase aqui à supressividade de doenças radiculares nos sistemas que incluem a cultura da soja.

Tabela 1. Conceitos relacionados aos solos supressivos e à sustentabilidade agrícola, que podem ser utilizados no manejo de doenças.

Conceito	Definição	Autores
Solo supressivo	Solos onde o patógeno não se estabelece ou persiste; se estabelece mas causa pouco ou nenhum dano; a severidade ou incidência da doença permanece baixa e perde importância, apesar da presença do patógeno, planta hospedeira suscetível e condições climáticas favoráveis para o desenvolvimento de doenças.	Baker; Cook, 1974
Qualidade do solo	Capacidade de um tipo específico de solo para funcionar, dentro de limites do ecossistema natural ou gerenciado, para sustentar a produtividade vegetal e animal, manter ou melhorar a qualidade da água e do ar e apoiar a saúde humana e a habitação.	Karlen et al., 1997
Saúde do solo	Capacidade contínua do solo de funcionar como um sistema vital, dentro dos limites do ecossistema e do uso da terra, para sustentar a produtividade biológica, manter a qualidade do ar e da água, e promover a saúde vegetal, animal e humana.	Doran et al., 1996
Agricultura regenerativa	Há um redesenho do sistema para restaurar a base de recursos por meio de serviços ecológicos naturais, com objetivo principal de melhorar a saúde do solo ou restaurar o solo altamente degradado, com impacto ambiental menor ou mesmo positivo.	Rhodes, 2017
Intensificação ecológica	Sistema que visa a maximização da produtividade sem comprometer a capacidade do sistema de sustentar sua capacidade produtiva.	FAO, 2009

Cook e Baker (1983) descreveram duas formas básicas de supressão a doenças, geral e específica. A geral está diretamente relacionada à alta atividade microbiana de muitos organismos benéficos endêmicos no solo e atua contra um grupo ou todos os patógenos possíveis. Já a supressão específica opera apenas contra certos tipos de patógenos, com maior número de casos descritos em literatura para os fitonematoides e fungos (Westphal, 2005).

A supressão natural de doenças nos solos é geralmente atribuída a causas biológicas e, pode ser perdida com tratamentos biocidas (Ghini; Zaroni, 2001; Westphal, 2005). Eventualmente, variáveis químicas e físicas também podem ser importantes. Os componentes químicos e físicos do solo, incluindo pH, matéria orgânica e teor de argila, saturação de bases e capacidade de retenção de água podem atuar na supressão de doenças de plantas direta ou indiretamente por meio de seus impactos na atividade microbiana (Perez-Bradán et al., 2012) mas, majoritariamente, as causas mais estudadas de supressão a doenças tem origem na comunidade de microrganismos, e eventualmente em algumas espécies-chave de antagonistas e processos metabólicos associados a esses grupos. Independentemente do conceito a ser explorado no planejamento de um sistema produtivo ou em projetos de pesquisa, os níveis de supressividade de um solo podem ser encarados como algo sempre a ser melhorado.

Solos supressivos no contexto atual da agricultura brasileira

A sobrevivência dos patógenos e demais componentes biológicos no solo é afetada pelo clima, gerando padrões de variação temporal (Almeida et al., 2001; Lopes et al., 2018). As variáveis ambientais são geralmente entendidas como temperatura, precipitação e umidade do solo, causas de variação conhecidas que influenciam as doenças radiculares e a eficácia das medidas de controle (Raza et al., 2017). Mas considerando que muitos microrganismos têm pelo menos parte do seu ciclo colonizando matéria orgânica morta mais a evidente influência da disponibilidade de plantas hospedeiras, a oferta sazonal de raízes e restos culturais nos solos brasileiros é um fator nutricional importante que afeta a flutuação do inóculo no solo e suas respectivas doenças. Estas variáveis facilitam ou inibem a germinação de propágulos infectantes e induzem a formação de estruturas de resistência, em ambientes adversos.

Densidade de inóculo de patógenos e interações no solo

Em estratégias de manejo de doenças que envolvem rotações de cultura, aporte de matéria orgânica entre outras com objetivo comum de desinfestação do solo, uma medida frequentemente usada para avaliar sua eficácia é a redução da densidade de inóculo, pois as chances de infecção de plantas pelos patógenos radiculares relacionam-se à quantidade do inóculo disponível (Michereff et al., 2005). Estas relações (ex: escleródio/m², número de nematoides/100cc de solo) são importantes, devido à baixa capacidade de redistribuição destes patógenos no solo. Em vários patossistemas, a incidência de doenças pode ser proporcional à densidade de inóculo, como no caso de *R. solani* (Botelho et al., 2007), *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (Toledo-Souza et al., 2012) e *S. sclerotiorum* (Geraldine et al., 2013). A densidade de inóculo, portanto, constitui uma maneira prática de verificar mudanças no número de propágulos em um determinado período.

Há diversos relatos de redução da infestação de solos por nematoides ou fungos em monoculturas, mas estas observações se concentram em países de clima temperado, onde com frequência se pratica um único cultivo anual (Westphal, 2005). Nos solos tropicais e subtropicais do Brasil, onde o solo pode ser cultivado durante o ano inteiro, esta não é a realidade, e a rotação de culturas no SPD tem sido incentivada como uma das possibilidades de se desinfestar o solo e manejar podridões radiculares e murchas (Toledo-Souza et al., 2008; 2012). Mas a redução na da densidade de inóculo pode não ser suficiente para ter grande influência na ocorrência de doenças, ao menos nas rotações curtas praticadas no Brasil, e que pouco influenciam patógenos com ampla gama de hospedeiras, como *S. sclerotiorum*, *M. phaseolina* e *Meloidogyne* spp., entre outros. Almeida et al. (2001) mostraram que nas condições brasileiras onde o cultivo contínuo de soja é amplamente utilizado pelos agricultores em SPD, pode haver um aumento significativo da podridão de carvão devido ao aumento da sobrevivência de *M. phaseolina* em talhões com histórico da cultura.

Uma das questões em aberto na epidemiologia das doenças radiculares diz respeito à eficiência do inóculo em causar doenças (Campbell; Benson, 1994). Ou seja, os propágulos (unidades que transmitem uma doença) podem ter diferentes potenciais de dano se estiverem em diferentes estados nutricionais, ou podem ter um desempenho diferente quando expostos ao estresse ambiental considerando a mesma densidade de inóculo (Madden et al., 2005).

Essa questão do inóculo e da densidade populacional do patógeno está relacionada a um processo dependente da densidade que regula o tamanho da população (Westphal, 2005), e que oscila de acordo com a capacidade de suporte do ambiente e a disponibilidade de recursos que sustentam essas populações. Por exemplo, a competição intraespecífica por recursos nutricionais também regula as populações, e a competição interespecífica no solo pode regular as populações independentes de sua densidade. Vários patógenos habitantes do solo se enquadram em exemplos de mecanismos dependentes da densidade (Parker; Gilbert, 2018).

Portanto, a densidade de inóculo é um fator de risco às culturas, mas se analisada isoladamente pode não explicar bem a ocorrência de doenças. Esta revisão não trata do controle biológico por inundação com o uso massal de antagonistas em pulverizações ou no tratamento de sementes, mas também considera que o uso de bioagentes como *Trichoderma harzianum* e *Pseudomonas fluorescens* (Srivastava et al., 1996) pode ajudar como um acelerador da supressão de doenças ao colaborar na redução do inóculo inicial de patógenos de difícil manejo, como *M. phaseolina*. Além disso, o impacto destes microrganismos formulados com alta concentração de conídios/células viáveis para controle biológico por inundação, em princípio, tem impacto mínimo na comunidade microbiana do solo (Silva et al., 2021) e pode ser uma prática compatível com o controle biológico conservativo.

O fato de um solo estar infestado não quer dizer necessariamente que os propágulos dos patógenos (ou dos demais habitantes) estejam ativos, conforme a competição por nutrientes, sítios de infecção e condições ambientais mencionadas acima possam ser limitantes à sua atividade. Nessas condições, é possível que ocorra a fungistase, capacidade dos solos de inibir a germinação de propágulos viáveis e não dormentes dos fungos sob temperatura e umidade favoráveis, ou o crescimento de hifas é reduzido ou paralisado por condições ambientais que não incluem temperatura e umidade (Watson; Ford, 1972) (vamos lembrar que componentes biológicos, químicos e físicos também fazem parte do ambiente solo).

Conforme revisado por Bonanomi et al. (2017), duas hipóteses não excludentes podem explicar a fungistase: (i) a presença de compostos inibitórios com atividade antifúngica, incluindo os voláteis, e (ii) a liberação de compostos orgânicos lábeis e nutrientes devido à intensa competição entre os microrganismos do solo. Esta pode ser uma explicação plausível para ilustrar a redução da capacidade de germinação carpogênica de escleródios de *S. sclerotiorum* (Figura 2), quando incubados em solos cultivados por períodos diferentes de cultivo de *Urochloa brizantha* (braquiária), em um sistema de integração lavoura-pecuária (Lobo Jr. et al., 2009).

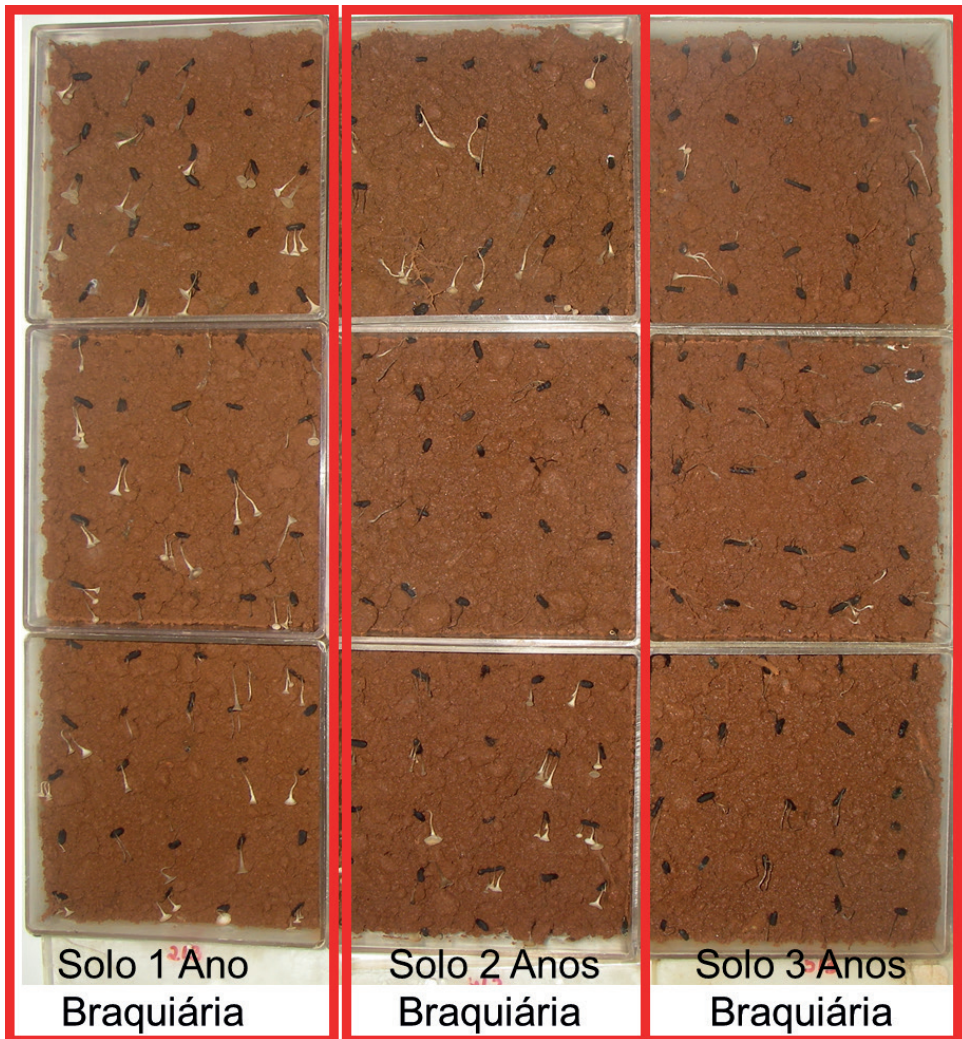


Figura 2. Redução da germinação carpogênica de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* incubados em solos cultivados com braquiária por diferentes períodos.

No Brasil, a recuperação de *M. phaseolina*, por exemplo, aumenta em fragmentos de caules e raízes enterrados, sugerindo que este fungo continua crescendo em restos culturais (Almeida et al., 2001), o que corresponde a um papel importante na epidemiologia de fungos que colonizam matéria orgânica. Recuperar ou desenvolver solos supressivos a doenças, portanto, é um objetivo complexo e importante para suportar a crescente demanda por alimentos e fibras em nosso país. Uma possibilidade de grupo a ser estimulado com o manejo de plantas no SPD são os fungos formadores de micorrizas arbusculares, que além de seus benefícios nutricionais às plantas reduzem a severidade da podridão de carvão em soja (Spagnoletti et al., 2017) e o número de propágulos de *Fusarium solani* em raízes de feijão (Hassam Dar et al., 1997).

É desejável que o manejo dos solos estimule o desenvolvimento não somente de determinados bioagentes amplamente estudados como antagonistas dos fitopatógenos ou promotores de crescimento de plantas, tais como as espécies de *Trichoderma*, *Pseudomonas* e *Bacillus*. Muitos destes habitantes nativos do solo são na verdade multifuncionais, colaborando tanto na proteção das plantas quanto na sua nutrição e crescimento, como as bactérias promotoras do crescimento de plantas. As suas contribuições nos sistemas produtivos incluem o biocontrole, e por isso, antagonistas reconhecidos como espécies chave se sobrepõem aos fenômenos de solos supressores de doenças. Os mecanismos mais bem estudados que conferem a supressão aos patógenos incluem o hiperparasitismo, a produção de antibióticos e sideróforos, a colonização física (preventiva) da rizosfera o endofitismo (colonizam o interior das plantas), a competição interespecífica por recursos, a biodegradação de substâncias tóxicas e a produção de sinais químicos (por exemplo, ácido salicílico) que induzem resistência sistêmica pelas plantas (Lehman et al., 2015).

Ainda que a supressividade específica a determinados patógenos possa ser motivada por um único antagonista (Gardener; Weller, 2001) e atingir bons níveis de controle de doença, a supressão geral ou ampla é condicionada por redes ou consórcios de microrganismos (Mendes et al., 2011, Poudel et al., 2016; Topalovic et al., 2020). O estímulo a estes grupos também é em geral tratado de forma ampla, considerando-se também que dificilmente um único grupo é estimulado com a implantação do SPD, e que a diversidade de espécies benéficas inclui componentes que não são exatamente grandes competidores (Gardener et al., 2005), como parte natural da sua diversidade. Se no caso brasileiro há complexos de patógenos habitantes do solo para se manejar, o estímulo aos consórcios de microrganismos parece uma opção acertada para se atingir níveis crescentes de supressividade. De modo geral, solos com maior biomassa ou diversidade de microrganismos são os mais supressivos às doenças (Postma et al., 2008)

Alguns exemplos de supressividade a doenças da soja em solos brasileiros

Rhizoctonia solani

A supressão de doenças causadas por *Rhizoctonia solani* pode estar associada a plantas “supressoras” a doenças e não a mudanças na composição da comunidade microbiana, talvez por falta de estudos complementares. Por exemplo, o centeio teve desempenho geralmente melhor quando comparado com três espécies de *Brassica* (colza, canola, mostarda), proporcionando ao cultivo subsequente de soja menor severidade de podridão radicular por *Rhizoctonia* e menores populações do nematoide do cisto (*Heterodera glycines*) de soja (Wen et al., 2017). Em solos brasileiros, onde *R. solani* pode ser extremamente

frequente (Blanco et al., 2018), é comum não haver sintomas de podridão de raízes. O índice de doença causada por este patógeno correlacionou-se negativamente com a saturação por alumínio e teor de argila, e positivamente com a saturação de bases e com o pH (Rodrigues et al., 1998).

Sclerotinia sclerotiorum

O efeito das plantas de cobertura do SPD sobre o manejo do mofo branco é obtido mais nitidamente pela camada de palha que limita a germinação de apotécios e liberação de ascósporos de *S. sclerotiorum* no ar, mas esta não é a única ação das gramíneas adotadas para formação de palhada, além da provável fungistase comentada acima (Lobo Jr. et al., 2009). O microclima formado sob o dossel das gramíneas em crescimento estimula a germinação carpo gênica de escleródios sob uma planta não hospedeira (Civardi et al., 2019), e o apodrecimento de raízes após a dissecação com glifosato oferece um aporte de até 12 toneladas ha⁻¹ de matéria orgânica, que funciona como substrato para o crescimento dos fungos e bactérias endêmicos associados à supressão das doenças. Foi também relatado que as braquiárias, uma das espécies mais populares nos solos tropicais do Brasil para cobertura do solo também abrigam diversos microrganismos endofíticos como *Paraconiothyrium* spp. Estes fungos funcionam como “cavalo de Tróia” porque são liberados no solo após a dessecação e parasitam os escleródios do patógeno (Alves et al., 2021).

Medidas de supressividade de doenças

Não há uma unanimidade em termos de metodologias para se avaliar a supressividade de solos. Estimativas como ocorrência, incidência e severidade de doenças são sempre necessárias para avaliar progressos e limitações no manejo das culturas. Além destas, vários atributos do solo têm sido estudados na busca por indicadores de supressividade/qualidade/saúde para monitorar o uso da terra, ou a degradação do solo e o efeito de diferentes sistemas de plantio. Estes indicadores de qualidade podem ser diferenciados de acordo com atributos físicos, químicos e biológicos. Os indicadores de atributos biológicos analisam os componentes da microbiota do solo, sua atividade e diversidade. Como os microrganismos e os seus processos relacionados estão intimamente ligados à função do solo, podem servir como referências sensíveis para avaliar as modificações no ambiente.

O carbono da biomassa microbiana tem sido um dos indicadores mais utilizados em estudos de qualidade do solo, pois é um atributo que responde prontamente às mudanças ambientais, muitas vezes de forma mais precoce do que atributos físicos e químicos (Hungria et al., 2009). A biomassa microbiana do solo corresponde à fração da matéria orgânica em que se alojam os organismos vivos com volume menor que $5 \times 10^3 \mu\text{m}^3$, sendo representados pelos Reinos *Archaea*, *Bacteria*, *Fungi*, *Protozoa*, além de alguns membros do Reino *Animalia*, como é o caso dos nematoides (Moreira; Siqueira, 2006).

A respiração basal do solo pode ser definida como a soma de todas as funções metabólicas do qual o dióxido de carbono (CO₂) é gerado no solo (Silva et al., 2007). Os principais responsáveis pela liberação do CO₂ via degradação da matéria orgânica são os fungos e as bactérias e, por essa razão, geralmente a quantidade do CO₂ emitida está relacionada à capacidade de degradação da matéria orgânica pela microbiota heterotrófica, constituindo uma fase fundamental no ciclo do carbono. A respiração basal do solo no campo é influenciada pela temperatura e disponibilidade de água. A interpretação de seus resultados deve ser

feita com critério, uma vez que respiração elevada nem sempre indica condições desejáveis. Altas taxas de respiração podem significar, em curto prazo, alta atividade da biomassa microbiana e rápida transformação da matéria orgânica em nutrientes para as plantas e, em longo prazo, perda de carbono orgânico do solo com possíveis efeitos sobre a supressividade.

Anderson; Domsch (1993) propuseram o termo quociente metabólico (qCO_2), definido pela razão entre a respiração basal por unidade de biomassa microbiana do solo por unidade de tempo. Segundo estes autores, o qCO_2 é uma estimativa mais precisa que a biomassa microbiana e a respiração basal para avaliar efeitos ambientais e antropogênicos sobre a biomassa microbiana do solo. Este atributo tem sido amplamente utilizado como indicador de estresse microbiano (limitações de nutrientes, baixo pH, contaminação do solo etc.). Em contrapartida, à medida que a biomassa microbiana se torna mais eficiente na utilização de recursos do ecossistema, menos CO_2 é perdido pela respiração e maior proporção de C é incorporada aos tecidos microbianos, o que resulta em diminuição do qCO_2 (Silva et al., 2007; Hungria et al., 2009).

Atualmente há um esforço por vários grupos de pesquisa no Brasil e no exterior para popularizar as avaliações de bioindicadores tornando-as parte da rotina dos laboratórios comerciais de análise de solo. Dentre diversas opções, avaliar a atividade de enzimas do solo fornece uma avaliação indireta da atividade a comunidade microbiana, e pode revelar respostas rápidas às mudanças no manejo do solo. Recentemente, a Embrapa lançou a tecnologia BioAs, que estabelece metodologias para bioanálise da qualidade do solo de acordo com a quantificação das enzimas aryl-sulfatase e beta-glicosidase. Estas enzimas têm entre suas vantagens serem altamente correlacionados com outros atributos como o carbono da biomassa microbiana, e serem de fácil mensuração (Mendes et al., 2018). Aparentemente ainda não há relatos que correlacionem estes bioindicadores com a incidência e severidade de doenças radiculares e perdas de produtividade (Janvier et al., 2007), o que estimula sua investigação como medida indireta da supressividade a doenças. Espera-se com os avanços das pesquisas que em breve, o produtor, possa ter uma visão ainda mais ampla do solo cultivado.

Os avanços na geração de métodos de sequenciamento de DNA e bioinformática também impulsionaram a comunidade científica interessada em compreender a complexidade da comunidade microbiana em uma ampla gama de ambientes (Mendes et al., 2011). O foco destes estudos não é apenas na composição da comunidade, mas também sobre as potenciais funcionalidades destes microrganismos e suas comunidades.

Os estudos em ecologia microbiana utilizam métodos moleculares para discriminar diferentes manejos de solo e dessa forma elucidar estruturas de comunidades ou estimar sua diversidade por meio de métodos de sequenciamento. Como exemplo, Gardener; Weller (2001) identificaram uma série de mudanças na comunidade microbiana da rizosfera de trigo e aumento da abundância de *Pseudomonas fluorescens* produtoras de 2,4-diacetylphloroglucinol (2,4-DAPG) responsáveis pela supressão ao mal-do-pé causado por *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, talvez o caso mais conhecido de supressão a doenças em monocultura. Estas cepas de *P. fluorescens* produtoras de 2,4-DAPG diferem na capacidade de colonizar a rizosfera sendo que há genótipos e espécies de plantas com preferência mútua ou “afinidade” entre si. Por exemplo, as cepas do genótipo D têm preferência por trigo e ervilha (Mavrodi et al., 2007).

Ademais, existe uma série de possibilidades de integração de conhecimentos, a partir de métodos fitopatológicos tradicionais e de análise molecular de última geração, para se compreender as interações entre espécies de interesse. Esta visão mais ampla pode ser utilizada para orientar o manejo de doenças radiculares, e planejar os sistemas produtivos para torná-los supressivos e sustentáveis.

Considerações finais

Solos supressivos são um componente importante para o manejo integrado de doenças radiculares, para a rentabilidade dos cultivos e consequente redução da pegada de carbono da agricultura. A supressividade a doenças pode ser a forma definitiva de alcançar a sustentabilidade agrícola (Hallmann; Kiewnick, 2015), mas pode ser que nem todo solo possa se tornar supressivo, ou que isso exija mudanças ainda não disponíveis nas tecnologias existentes. Há solos supressivos com componentes bem específicos porém, de modo geral, o microbioma diverso é um componente comum e estreitamente relacionado com a estabilidade das funções e serviços oferecidos pelos microrganismos no ecossistema solo (Tilman et al., 2014). Adicionalmente, uma maior diversidade leva à maior resiliência do ecossistema, maior resistência a invasão por espécies exóticas e menor incidência de doenças de plantas veiculadas no solo (Van Elsas et al., 2012). Não faltam no Brasil oportunidades para estimular a diversidade da microbiota do solo para fins de supressividade, especialmente com novos genótipos de plantas de cobertura, consórcios, mix e sistemas integrados (Figura 3).



Foto: Munillo Lobo Júnior

Figura 3. Soja cultivada sobre palhada de braquiária em sistema de integração lavoura-pecuária-floresta, na Embrapa Agrosilvopastoril em Sinop, MT.

No solo há dezenas de componentes físicos, químicos e biológicos que interagem entre si, com o clima e com as plantas, e por isso é impossível estabelecer limiares de dano econômico para as doenças radiculares ou ter medidas simples que meçam o grau de supressividade às doenças. Por estes motivos,

é desejável avaliar as doenças e sua associação com indicadores de qualidade do solo. Compreender melhor a composição e funções da comunidade microbiana é também de extrema importância neste contexto, tanto na identificação de fatores que influenciam o equilíbrio microbiológico dos solos, como na caracterização das relações entre grupos de microrganismos. Estas abordagens são ferramentas-chave para o entendimento das respostas dos microrganismos a alterações ambientais promovidas pelo uso da terra e monitoramento das populações que modulam ou contribuem diretamente para a supressão às doenças (Weller et al., 2002). Em termos práticos, a construção de solos supressivos pode ser encarada como um importante componente do manejo integrado de doenças, que pode interagir bem com outras medidas de controle.

Referências

- ALMEIDA, A. M. R.; SARAIVA, O. F.; FARIAS, J. R. B.; GAUDÊNCIO, C. A.; TORRES, E. Survival of pathogens on soybean debris under no-tillage and conventional tillage systems. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* v.36, p.1231-1238, 2001.
- ALVES, N. M.; GUIMARÃES, R.A.; GUIMARÃES, S. S. C.; FARIA, A.F.; SANTOS, I. A. F. M.; MEDEIROS, F. H. V.; JANK, L.; CARDOSO, P. G. A Trojan horse approach for white mold biocontrol: *Paraconiothyrium* endophytes promotes grass growth and inhibits *Sclerotinia sclerotiorum*. *Biological Control*, v. 160. e104685, 2021.
- ANDERSON, J. P. E.; DOMSCH, K. H. The metabolic quotient of CO₂ (*q*CO₂) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental condition, such as pH, on the microbial of forest soil. *Soil Biology & Biochemistry*, v. 25, p. 393-395, 1993.
- BAKER, R.; COOK, J. **Biological control of plant pathogens** San Francisco: W. H. Freeman, 1974.
- BLANCO, A. J. V.; COSTA, M. O.; SILVA, R. N.; ALBUQUERQUE, F. S.; MELO, A. T. O.; LOPES, F. A. C.; STEINDORFF, A. S.; BARBOSA, E. T.; ULHOA, C. J.; LOBO JUNIOR, M. Diversity and Pathogenicity of Rhizoctonia Species from the Brazilian Cerrado. *Plant Disease*, v. 101, p. 1, 2017.
- BONANOMI, G.; GAGLIONE, S.A.; CESARANO, G.; SARKER, T.C.; PASCALE, M.; SCALA, F.; ZOINA A. Frequent application of organic matter to agricultural soil increases fungistasis. *Pedosphere*, v.27, p.86-95, 2017.
- BONGIORNO, G.; POSTMA, J.; BÜNEMANN, E.K.; BRUSSAARD, L.; DE GOEDE, R.G.M.; MÄDER, P.; TAMM, L.; THUERIG B. Soil suppressiveness to *Pythium ultimum* in ten European long-term field experiments and its relation with soil parameters. *Soil Biology & Biochemistry* v.133, p. 174-187, 2019.
- BOTELHO, S. A.; RAVA, C. A.; LEANDRO, W. M.; COSTA, J. L. S. Supressividade natural de solos da região centro-oeste a *Rhizoctonia solani* Kühn. *Pesquisa Agropecuária Tropical* v. 31, p. 105-110, 2007.
- CAMPBELL, C. L.; BENSON, D. M. **Epidemiology and management of root diseases**. Berlin: Springer-Verlag, 1994.
- CIVARDI, E. A.; GÖRGEN, C. A.; RAGAGNIN, V. A.; da SILVEIRA NETO, A. N.; CARNEIRO, L. C.; LOBO JUNIOR, M. Management of Congo grass cover crop affects timing of *Sclerotinia sclerotiorum* carpogenic germination and decay of soybean stem rot. *Tropical Plant Pathology*, v. 44, 2019.
- COOK, R. J.; BAKER, K. F. **The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens**. Saint Paul: APS Press, 1983.
- Doran, J. W., Sarrantonio, M.; Liebig, M. A. Soil health and sustainability. *Advances in Agronomy*, v.56, p.1-54, 1996.
- EILEMBERG, J.; HAJEK, A.; LOMER, C. Suggestions for unifying the terminology in biological control. *Biocontrol*, v.46, p.387-400, 2001.
- FAO. **Glossary on Organic Agriculture**. FAO: Rome, 2009. Disponível em www.fao.org/organicag/oag-glossary/en/. Acesso em 09 jan. 2022.
- GARDENER, B. B. M.; WELLER, D. M. Changes in populations of rhizosphere bacteria associated with take-all disease of wheat. *Applied and Environmental Microbiology* v.67, p.4414-4425, 2001.
- GARDENER, B. B. M.; GUTIERREZ, L. J.; JOSHI, R.; EDEMA, R.; LUTTON, E. Distribution and biocontrol potential of *phlD* pseudomonads in corn and soybean fields. *Phytopathology* v. 95, p.715-724, 2005.

- GERALDINE, A. M.; LOPES, F. A. C.; CARVALHO, D. D. C.; BARBOSA, E. T.; RODRIGUES, A. R.; BRANDÃO, R. S.; ULHOA, C. J.; LOBO JUNIOR, M. Cell wall-degrading enzymes and parasitism of sclerotia are key factors on field biocontrol of white mold by *Trichoderma* spp. **Biological Control**, v. 67, p. 308-316, 2013.
- GHINI, R.; ZARONI, M. M. H. Relação entre coberturas vegetais e supressividade de solos a *Rhizoctonia solani*. **Fitopatologia Brasileira** v., p. 26:10-15, 2001.
- HALLMANN, J.; KIEWNICK, S. **Diseases caused by nematodes in organic agriculture**. In: FINCKH, M. R.; VAN BRUGGEN, A. H. C.; TAMM, L. (eds.) Plant diseases and their management in organic agriculture. St Paul: APS Press, 2015, p. 91-105.
- HASSAM DAR, G.; ZARGAR, M. Y.; BEIGH, G. M. Biocontrol of Fusarium Root Rot in the Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by using Symbiotic *Glomus mosseae* and *Rhizobium leguminosarum*. **Microbiology Ecology** v.34, p.74-80, 1997.
- HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; BRANDÃO-JUNIOR, O.; KASCHUK, G.; SOUZA, R. A. Soil microbial activity and crop sustainability in a long-term experiment with three soil-tillage and two crop-rotation systems. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 42, n. 3, p. 288-296, 2009.
- JANVIER, C.; VILLENEUVE, F.; ALABOUVETTE, C.; EDEL-HERMANN, V.; MATEILLE, T.; STEINBERG, C. Soil health through soil disease suppression: which strategy from descriptors to indicators? **Soil Biology and Biochemistry** v.39, p.1-23, 2007.
- KARLEN, D.L.; MAUSBACH, M.J.; DORAN, J.W.; CLINE, R.G.; HARRIS, R.F.; SCHUMAN, G.E. Soil quality: a concept, definition, and framework for evaluation. **Soil Science Society of America Journal** v.61, p.4-10, 1997.
- LEHMAN, R.M.; CAMBARDELLA, C.A.; STOTT, D.E.; ACOSTA-MARTINEZ, V.; MANTER, D.K.; BUYER, J.S.; SMITH, J.L.; COLLINS, H.P.; HALVORSON, J.J.; KREMER, R.J.; LUNDGREN, J.G.; DUCEY, T.F.; JIN, V.L.; KARLEN, D.L. Understanding and enhancing soil biological health: the solution for reversing soil degradation. **Sustainability** v.7, p.988-1027, 2015.
- LOBO JUNIOR, M.; BRANDÃO, R. S.; CORRÊA, C. A.; GÖRGEN, C. A.; CIVARDI, E. A.; OLIVEIRA, P. **Uso de Braquiárias para o Manejo de Doenças Causadas por Patógenos Habitantes do Solo**. Santo Antônio de Goiás, GO: Embrapa Arroz e Feijão, 2009. (Embrapa Arroz e Feijão. Comunicado Técnico, 183).
- LOPES, A. A. C.; SOUSA, D. M. G.; REIS, F. B.; FIGUEIREDO, C. C.; MALAQUIAS, J. V.; SOUZA, L. M.; MENDES, I. C. Temporal variation and critical limits of microbial indicators in oxisols in the Cerrado, Brazil. **Geoderma Regional**, v. 12, p. 72-82, 2018.
- MADDEN, L. V.; HUGHES, G.; van den BOSCH, F. **The Study of Plant Disease Epidemics**. St. Paul: APS Press, 2005.
- MAVRODI, O. V.; MAVRODI, D. V.; THOMASHOW, L. S.; WELLER, D. M. Quantification of 2,4-Diacetylphloroglucinol-Producing *Pseudomonas fluorescens* Strains in the Plant Rhizosphere by Real-Time PCR. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, p. 5531-5538, 2007.
- MENDES, I. C.; SOUSA, D. M. G.; REIS JUNIOR, F. B.; LOPES, A. A. C. **Bioanálise de solo: como acessar e interpretar a saúde do solo**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2018. 24p. (Embrapa Cerrados. Circular Técnica, 38).
- MENDES, R.; KRUIJT, M.; DE BRUIJN, I.; DEKKERS, E.; VAN DER VOORT, M.; SCHNEIDER, J. H. M.; PICENO, Y. M.; DESANTIS, T. Z.; ANDERSEN, G. L.; BAKKER, P. A.; RAAIJMAKERS, J. M. Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria. **Science** v.332, p.1097-1100, 2011.
- MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; SEII, A. H.; DIAS, A. R.; JACCOUD FILHO, D. S.; BORGES, E. P.; JULIATTI, F. C.; NUNES JUNIOR, J.; SILVA, L. H. C. P.; SATO, L. N.; MARTINS, M. C.; VENANCIO, W. S. **Eficiência de fungicidas para controle de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, na safra 2017/18: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos**. Londrina: Embrapa Soja, 2018. 5p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 140).
- MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; PERUCH, L. A. M. **Inóculo de patógenos radiculares**. In: MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. (Org.). Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais. Recife: Imprensa Universitária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2005. p. 93-124.
- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. atualizada e amplificada. Lavras: UFLA, 2006. 729 p.
- PARKER, I. M.; GILBERT, G. S. Density-dependent disease, life-history trade-offs, and the effect of leaf pathogens on a suite of co-occurring close relatives. **Journal of Ecology**, v. 106, p. 1829-1838, 2018.
- PEREZ-BRADÁN, C.; ARZENO, J.L.; HUIDOBRO, J.; GRÜMBERG, B.; CONFORTO, C.; HILTON, S.; BENDING, G.D.; MERILES, J.M.; VARGASGIL, S. Long-term effect of tillage systems on soil microbiological, chemical and physical parameters and the incidence of charcoal rot by *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid in soybean. **Crop Protection**, v. 40, p. 73-82, 2012.
- POSTMA, J.; SCHILDER, M. T.; BLOEM, J.; VAN LEEUWEN-HAAGSMA, W. K. Soil suppressiveness and functional diversity of the soil microflora in

organic farming systems. *Soil Biology & Biochemistry* v.40, p.2394-2406, 2008.

POUDEL, R.; JUMPPONEN, A.; SCHLATTER, D. C.; PAULITZ, T. C.; MCSPADDEN GARDENER, B. B.; KINKEL, L. L.; GARRET, K. A. Microbiome Networks: A Systems Framework for Identifying Candidate Microbial Assemblages for Disease Management. *Phytopathology*, v.106, p. 1083-1096, 2016.

RAZA, W.; LING, N.; ZHANG, R.; HUANG, Q.; XU, Y.; SHEN, Q. Success evaluation of the biological control of Fusarium wilts of cucumber, banana, and tomato since 2000 and future research strategies. *Critical Reviews in Biotechnology* v.37, p.202-212, 2017.

RHODES, C. J. The imperative for regenerative agriculture. *Science Progress*, v.100, p. 80-129, 2017.

RODRIGUES, F. A.; CORRÊA, G. F.; SANTOS, M. A.; BORGES FILHO, E. L. Fatores envolvidos na supressividade a *Rhizoctonia solani* em alguns solos tropicais brasileiros. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* v. 22, p.239-246, 1998.

SILVA, E. E.; AZEVEDO, P. H. S.; DE-POLLI, H. Determinação da respiração basal (RBS) e quociente metabólico do solo (qCO_2). Embrapa Agrobiologia: Seropédica, 2007. 4p. (Embrapa Agrobiologia. Comunicado Técnico, 99).

SILVA, F. A.; VIEIRA, V. O.; CARRENHO, R.; RODRIGUES, V. B.; LOBO JUNIOR, M.; SILVA, G. F.; SOARES, M. A. Influence of the biocontrol agents *Trichoderma* spp. on the structure and functionality of the edaphic microbial community in common bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) inoculated with *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. *Applied Soil Ecology*, v.168, p.104190, 2021.

SPAGNOLETTI, F.; CARMONA, M.; GÓMEZ, N. E. T.; CHIOCCCHIO, V.; LAVADO, R. S. Arbuscular mycorrhiza reduces the negative effects of *M. phaseolina* on soybean plants in arsenic-contaminated soils. *Applied Soil Ecology*, v.121, p.41-47, 2017.

SRIVASTAVA, A. K.; ARORA, D. K.; GUPTA, S.; PANDEY, R. R.; LEE, M. W. Diversity of potential microbial parasites colonizing sclerotia of *Macrophomina phaseolina* in soil. *Biology and Fertility of Soils* v.22, p.136-140, 1996.

TILMAN, D.; ISBELL, F.; COWLES, J.M. Biodiversity and Ecosystem Functioning. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, v. 45, p. 471-493, 2014.

TOLEDO-SOUZA, E. D.; SILVEIRA, P. M.; LOBO JUNIOR, M.; CAFE FILHO, A. C. Sistemas de cultivo, sucessões de culturas, densidade do solo e sobrevivência de patógenos de solo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 43, p. 971-978, 2008.

TOLEDO-SOUZA, E. D.; SILVEIRA, P. M.; CAFE FILHO, A. C.; LOBO JUNIOR, M. Fusarium wilt incidence and common bean yield according to the preceding crop and the soil tillage system. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* v.47, p. 1031-1037, 2012.

TOPALOVIC, O.; HUSSAIN, M.; HEUER, H. Plants and Associated Soil Microbiota Cooperatively Suppress Plant-Parasitic Nematodes. *Frontiers in Microbiology*, v.11, Article 313, 2020.

VAN ELSAS, J. D.; CHIURAZZI, M.; MALLON, C. A.; ELHOTTOVA, D.; KRISTUFEK, V.; SALLES, J. F. Microbial diversity determines the invasion of soil by a bacterial pathogen. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 109, p. 1159-1164, 2012.

WATSON A. G.; FORD, E. J. Soil fungistasis: a reappraisal. *Annual Review of Phytopathology* v.10, p.327-346, 1972.

WELLER, D. M.; RAAIJMAKERS, J. M.; GARDENER, B. B. M.; THOMASHOW, L.S. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, v. 40, p. 309-348, 2002.

WEN, S.; LEE-MARZANO, S.; ORTIZ-RIBBING, L. M.; GRUVER, J.; HARTMAN, G. L.; EASTBURN, D. M. Suppression of Soilborne Diseases of Soybean with Cover Crops. *Plant Disease* v. 101, p.1918-1928, 2017.

WESTPHAL, A. Detection and Description of Soils with Specific Nematode Suppressiveness. *Journal of Nematology*, v.37, p.121-130, 2005.

Plantas de cobertura e saúde do solo

Paulo Cesar Conceição

Cidimar Cassol

Laércio Ricardo Sartor

Carlos Alberto Casali

Sergio Miguel Mazaro

Qualidade do solo - uma visão sistêmica

A partir do momento em que o homem deixou de ser nômade, o local em que ele se fixou passou a ser influenciado por seu sistema de utilização. Localizando-se inicialmente nas áreas férteis as margens dos rios, com o crescimento da população, o agricultor primitivo precisou aumentar a área de exploração para suprir a demanda por alimentos, a partir da formação dos pequenos núcleos urbanos. A necessidade de aumentar a produtividade da área explorada levou a humanidade a buscar soluções que melhorassem a fertilidade do solo. Passou então a utilizar resíduos animais, restos orgânicos ou camadas de solos florestais.

O avanço tecnológico e a visão de que era necessário produzir cada vez mais para suprir as necessidades da população crescente, fez com que o agricultor moderno utilizasse intensivamente produtos industrializados, em especial após a chamada "revolução verde" na década de 70, visando aumentar a produtividade, por meio do conceito do crescimento vertical ao invés da expansão da área cultivada.

A técnica convencional de utilização do solo, com seu frequente revolvimento em regiões tropicais, propiciou a sua degradação e, conseqüentemente, a redução da produtividade, mesmo com o frequente aporte de nutrientes. Adicionalmente, regiões tropicais possuem temperaturas elevadas e chuvas frequentes, o que leva à erosão do solo. Com a constante preocupação com a manutenção da produtividade e da fertilidade do solo, pesquisadores definiram, com base em estudos científicos, índices de produtividade baseados na acidez e densidade do solo, distribuição de raízes de plantas, visando avaliar o impacto da erosão do solo na produtividade das culturas (Pierce et al., 1983).

Sabendo que o solo se constitui de um sistema aberto, com entradas e saídas de energia e matéria, por meio das interações com os componentes químicos (insumos), físicos (energia e trabalho) e biológicos (plantas, animais e o próprio homem) subentende-se que a igualdade entre as entradas e saídas caracteriza um sistema estável, mas não necessariamente sustentável. Desta forma, é de fundamental importância o desenvolvimento de critérios e índices, que serão capazes de quantificar a sustentabilidade agroecológica e socioeconômica dos sistemas de produção.

Um dos parâmetros para avaliar a sustentabilidade é a qualidade do solo também denominada de saúde do solo, medida por meio de indicadores de produção, da qualidade ambiental e da saúde humana e animal. Na ausência de índices mais efetivos para a avaliação da qualidade do solo, os principais atributos normalmente monitorados são a dinâmica da matéria orgânica e a atividade biológica, por meio da relação C/N, a disponibilidade e equilíbrio de nutrientes, a acidez e/ou salinidade, a estruturação e agregação do solo, a infiltração e armazenamento de água, além das condições de enraizamento das plantas ao longo do perfil do solo, bem como, a produtividade das culturas e/ou dos animais (Muzilli et al., 1997).

A matéria orgânica proporciona vida ao solo, mas se não houver uma distribuição equilibrada e uniforme, dificilmente o solo será fértil. Por isto, a saúde do solo depende principalmente da matéria orgânica (MO). Quando os teores de MO estiverem reduzidos, o solo apresentará sintomas de doenças bióticas e abióticas, tais como, a menor resistência às secas, o menor desenvolvimento do sistema radicular, devido a compactação do solo, o desequilíbrio nutricional das plantas e consequentemente a redução do potencial produtivo.

Portanto, o conceito de qualidade e saúde do solo começou a ser elaborado no início dos anos 90, com a realização de diversos eventos técnicos, como por exemplo, a Conferência Internacional com o tema Avaliação e Monitoramento da Qualidade dos Solos em 1991 na Pensilvânia; o Workshop Internacional na Evolução para Manejo Sustentável da Terra no Desenvolvimento Mundial em 1991 e a 7ª Conferência Internacional em Organização da Conservação do Solo realizada na Austrália em 1992 (Harris; Bezdicek, 1994).

A preocupação com o desenvolvimento global sustentável foi evidenciada pela participação de representantes de 178 países na Conferência das Nações Unidas para o Meio Ambiente e Desenvolvimento (ECO-92) realizada no Brasil em 1992. Nesse âmbito, Doran e Parkin (1994) apresentaram a definição para qualidade do solo (QS), como a capacidade do solo para funcionar dentro de um ecossistema limitado, para sustentar produtividade biológica, manter a qualidade do meio ambiente e promover a saúde das plantas e animais. Desta forma, a produção sustentável seria definida em termos de produção de plantas e da resistência à erosão, da qualidade do meio ambiente com a função da qualidade de água do solo, água superficial e qualidade do ar, saúde humana e animal, abrangendo a qualidade de alimentos, a composição nutricional e a segurança alimentar.

No Brasil o uso do termo Saúde do solo não é novo. Ana Primavesi publicou, em 1979, o livro “Manejo Ecológico do Solo a agricultura em regiões tropicais”, em que a engenheira agrônoma e pesquisadora, ressaltava a necessidade de restabelecimento do equilíbrio do solo e de suas relações com o ambiente. A época já citava a necessidade de conhecermos o conceito da saúde do solo para que pudessemos efetivamente saber o quanto estávamos cuidando do nosso solo, indicando a MO como um indicativo muito forte da influência do manejo sobre os solos.

A autora, na abertura do primeiro encontro Nacional de Plantio Direto na Palha, já ressaltava a importância de uma visão sistêmica para que o solo seja realmente produtivo, o papel da MO e das plantas de cobertura no sistema de produção agrícola brasileiro. Ao receber em 2012 o prêmio *One World Award*, o principal prêmio da agricultura orgânica mundial, destacou que o segredo da vida é o solo,

porque do solo dependem as plantas, a água, o clima e a nossa vida. Tudo está interligado. Não existe ser humano sadio, se o solo não estiver sadio e as plantas nutridas.

Portanto, compreende-se que a MO pode ser utilizada como atributo chave da QS (Conceição, 2005), pois além de satisfazer o requisito básico de ser sensível as modificações no manejo do solo, é ainda fonte primária de nutrientes às plantas, auxiliando na infiltração e retenção de água, bem como, na redução da erosão. Além de atuar sobre outras propriedades críticas como ciclagem de nutrientes, propriedades químicas e estruturação do solo.

No entanto, os sistemas de manejo do solo desenvolvidos para as regiões temperadas quando aplicados nas regiões tropicais e subtropicais, expõem a superfície do solo à ação dos agentes climáticos, que atuam nessas regiões com grande intensidade. A temperatura é um atributo que apresenta uma das diferenças mais contrastantes entre regiões tropicais e temperadas. Em média, a temperatura dos trópicos são 15 °C mais quente do que nas regiões temperadas, além de não apresentarem invernos com temperaturas baixas (Duxbury et al., 1989).

Altas temperaturas tendem a acelerar os processos bioquímicos, que juntamente com o rompimento da proteção física pelo preparo do solo, determinam taxas de decomposição mais altas do que as taxas de adições dos resíduos orgânicos, provocando rápida diminuição no teor de MO. Inicia-se assim, um processo de degradação física, química e biológica do solo com a redução da produtividade e o aumento da erosão, que por sua vez, retroalimenta o processo de degradação do solo.

A recuperação da QS e, por consequência, do potencial produtivo das culturas em áreas degradadas deverá ser um dos principais objetivos da pesquisa em manejo de solos. Quando o solo é degradado a níveis que não possa desempenhar suas funções, a recuperação de sua qualidade é lenta, por muitas vezes cara e incerta, além de, em casos extremos, o retorno à antiga qualidade não ser mais possível de ser atingida. Os experimentos de longa duração permitem avaliar a influência do sistema de manejo na QS no decorrer do tempo, servindo como uma ferramenta de suporte para a tomada de decisões pelos produtores.

Segundo Mielniczuk (1988), sistemas de manejo visando à conservação e recuperação do solo e a expressão do potencial produtivo, devem ter como principais características: (1) proporcionar elevada cobertura do solo durante o ano, por plantas ou seus resíduos, com ênfase nos períodos de maior precipitação e insolação; (2) proporcionar aporte contínuo e abundante de resíduos vegetais para contrabalançar a rápida decomposição da MO e dos resíduos vegetais e (3) promover o mínimo revolvimento do solo, permitindo o máximo de resíduos na superfície e redução das reações de oxidação da MO.

A utilização do sistema plantio direto (SPD), que alia os três requisitos supracitados (Possamai, et al., 2022), tem reflexo positivo no incremento da MO, favorecendo o aumento da produtividade e a eficiência de absorção dos nutrientes. Estudos com a utilização de sistemas conservacionistas demonstram já de longa data a melhoria na estabilidade estrutural (Silva; Mielniczuk, 1997), na retenção de água e temperatura do solo (Salton; Mielniczuk, 1995), conteúdo de carbono orgânico, nitrogênio total e CTC do solo (Bayer; Mielniczuk, 1997ab).

Associado ao sistema plantio direto, o uso de plantas de cobertura, propiciando a adição de fitomassa ao longo dos ciclos de cultivo, tem demonstrado ser uma das práticas mais eficazes em aumentar o teor de MO no solo, ciclagem de nutrientes e proteção à erosão.

Plantas de cobertura - um diferencial no sistema plantio direto

O uso de plantas de cobertura, visando obter a melhoria da QS é uma técnica agrícola muito antiga, sendo a civilização chinesa a primeira a desempenhar essa atividade, adicionando resíduos vegetais ao solo e posteriormente incorporando-os para promover o seu efeito de fertilização (1134 - 247 a.C.). Depois dos chineses, os gregos e romanos passaram a utilizar plantas de cobertura como o tremoço e a fava, para aumentar os teores de matéria orgânica e a produtividade das culturas em sucessão (Pieters, 1927). Os resultados benéficos da adubação verde fizeram com que essa prática fosse utilizada por mais de dois mil anos, apesar de, naquele momento, não ter nenhuma explicação técnica ou científica sobre a causa dos benefícios (Rossi; Carlos, 2014).

No Brasil, o primeiro registro oficial da utilização de adubos verdes data do ano de 1919, relatando que o êxito da prática das plantas de cobertura, era dependente do estudo e da escolha das espécies, além da cultura que se pretendia beneficiar, das características edafoclimáticas e das circunstâncias socioeconômicas locais. O conceito na época deixava explícita uma “visão química”, cujo requisito era a incorporação da massa vegetal ao solo, com objetivo de melhorar sua fertilidade, passando na década 90 a ter uma visão mais “integral e holística” onde foram atendidos os aspectos de solo (proteção e recuperação física, química e biológica), dos animais (forragens), do homem (alimentação, fibras, produção de sementes etc.) e do ambiente (diminuição dos impactos ambientais da agricultura e o sequestro do carbono). Na definição também está atrelada a possibilidade de utilização de outras famílias botânicas incorporadas ou não ao solo (Wutke et al., 2014).

A utilização de plantas de coberturas possibilita diversos benefícios para os sistemas de cultivo, tais como, a formação de cobertura vegetal para proteção do solo contra erosão, o aporte de nitrogênio (no caso das fabáceas), a diminuição das plantas espontâneas através do efeito supressor e/ou alelopático, evitando a incidência direta de radiação solar, além de proporcionar a manutenção da umidade e evitar oscilações abruptas de temperatura.

O sistema radicular “agressivo” de algumas espécies descompacta e estrutura o solo (agregação e aeração), aumentando a infiltração de água. Adicionalmente, promovem a ciclagem de nutrientes das camadas mais profundas do solo, sendo mantidos na forma orgânica (na planta) estando menos suscetíveis a lixiviação e são disponibilizados (mineralizados) mais lentamente às plantas de acordo com a decomposição da matéria orgânica (Calegari, 2004; Ambrosano et al., 2014).

Apesar da diversidade de espécies de plantas de cobertura disponíveis para serem utilizadas, verifica-se ainda pouca exploração dessas opções, visto que os tipos de resíduos mais comuns que antecedem a cultura do milho e soja na região sul são de aveia, trigo e triticale. Enquanto, na região centro-oeste predominam o milheto e o milho como resíduos encontrados na cultura da soja. Dessa forma, um dos grandes desafios para os pesquisadores da área de manejo e conservação do solo é estimular a inserção de espécies para cobertura do solo, mediante conscientização dos agricultores,

de que a adoção dessa prática é de extrema importância para se atingir as premissas básicas do SPD (Ziech, 2016; Possamai et al., 2022).

Gramíneas (poáceas) - aliadas da conservação do solo

As plantas de cobertura podem ser classificadas em duas categorias de acordo com sua taxa de decomposição: (1) poáceas, plantas de decomposição lenta, com relação C/N alta (30/1) que promovem a imobilização de N. (2) fabáceas e brássicas, plantas de decomposição rápida, com relação C/N inferior a 20/1 e promovem a mineralização de N. Valores intermediários (25:1) promovem um equilíbrio entre a mineralização e a imobilização de N (Alvarenga et al., 2008).

Em manejos conservacionistas preconiza-se a manutenção de palhada sobre o solo, que é condicionado pela adição de resíduos com alta relação C/N. Nesse sentido das espécies de poáceas, a aveia se destaca como a principal espécie utilizada na região sul do país no período de inverno, seguido pelo centeio. As espécies de poáceas são rústicas e apresentam uma boa capacidade de perfilhamento que promovem rápida cobertura do solo. Entre as espécies, a aveia é efetiva na capacidade de prover cobertura do solo, sendo capaz de recobrir 85 % do solo aos 50 dias após a semeadura (Ziech et al., 2015).

Estas espécies em função da alta relação C/N promovem imobilização de N do solo e, quando culturas com alta demanda por N são cultivadas na sequência, como o milho, recomenda-se aumentar a dose de N na semeadura da cultura principal, visando evitar a redução de produtividade, o que acaba por aumentar os custos de produção (Ziech, 2016). Já para a cultura da soja esse problema não existe e, por conta disso, a aveia é a utilizada com mais frequência pelos produtores, como cultura de cobertura.

Leguminosas (fabáceas) - estratégia na construção da qualidade do solo

A fixação biológica de nitrogênio (FBN) representou um grande avanço na ciência do solo, especialmente brasileira e um impulso na produtividade da soja. Entretanto, a adoção de plantas de cobertura leguminosas capazes de contribuir na FBN também é algo pouco estimulado dentro do sistema de produção, embora, exista uma diversidade de espécies de plantas disponíveis para as condições tropicais. Além disso, os microrganismos com foco em FBN em plantas de cobertura são pouco estudados, com isso, o potencial de fixação biológica dessas espécies é dependente da colonização das bactérias nativas, algo nem sempre eficiente.

Assim, as fabáceas são alternativas interessantes para o fornecimento de N ao solo e as culturas comerciais, podendo reduzir parcialmente ou totalmente a utilização da adubação nitrogenada (Cherubin et al., 2014). Em trabalho realizado por Aita et al. (2001), num Argissolo Vermelho distrófico arênico, foram obtidos valores de equivalência em N mineral da ervilhaca e tremoço para a cultura do milho de 137 e 122 kg ha⁻¹ de N, respectivamente, sendo a expectativa de rendimento próxima a 6.000 kg ha⁻¹. Em Latossolo Vermelho distrófico, na região sudoeste do Paraná a equivalência em N mineral da ervilhaca e tremoço foi de 78 e 72 kg ha⁻¹ de N, para milho com expectativa de rendimento de 9.000 kg ha⁻¹ (Cassol, 2019).

Estes resultados indicam que para expectativas de até 6.000 kg ha⁻¹ de grãos de milho a contribuição em N mineral das fabáceas pode chegar a 81% do N aplicado, reduzindo para 42%, quando a expectativa

de rendimento é aumentada para 9.000 kg ha⁻¹ de grãos. No entanto, esse potencial muitas vezes não é levado em consideração nos sistemas de produção, o que torna o debate da rotação de culturas utilizando milho-soja algo pouco prático pelo elevado custo de produção da gramínea, que pode ser reduzido aliando a utilização de culturas de cobertura e microrganismos no fornecimento de N.

Por outro lado, as fabáceas apresentam como características a baixa relação C/N, que acarreta a rápida decomposição da sua massa vegetal, deixando o solo desprotegido logo no início do cultivo subsequente, bem como, apresenta menor potencial de produção de matéria seca (MS) em relação às espécies poáceas que se enquadram na mesma época de cultivo. Desse modo, a consorciação das espécies é uma estratégia que vem sendo estudada tanto para proteção do solo como para o fornecimento de nutrientes, destacando-se o nitrogênio (Aita et al., 2004; Giacomini et al., 2004; Doneda et al., 2012; Dahlem, 2013; Ziech., et al 2015; Ziech, 2016; Koefender et al., 2016; Michelon et al., 2019).

Consórcios de plantas de cobertura - uma nova realidade

A utilização de plantas de cobertura é utilizada geralmente de forma isolada, entretanto, pesquisadores e agricultores vêm avaliando e adotando os sistemas consorciados. Essa tecnologia foi utilizada nos anos 80, caindo em desuso pouco tempo depois. Recentemente, com o estabelecimento de empresas especializadas no fornecimento das sementes e do interesse dos agricultores, os sistemas consorciados de culturas de cobertura vêm ganhando importância na agricultura brasileira. Com a utilização de sistemas consorciados, também denominados de mixes, blends ou coquetéis de plantas de cobertura tem-se buscado diversos benefícios, possibilitando assim, o maior arranque inicial e crescimento por parte das poáceas, contribuindo na proteção do solo, ao mesmo tempo que em fabáceas contribuem na fixação do N. Isto permite uma relação C/N intermediária obtendo-se equilíbrio da decomposição de MS (Ziech et al., 2015).

Os consórcios de plantas de cobertura permitem que ocorra lenta liberação de N, bem como, a proteção do solo por um período maior (Michelon et al., 2019). Por isso, a adoção de mixes possibilita uma diversidade de parte aérea e de raízes, onde as raízes profundas possibilitam uma maior ciclagem e eficiência no uso de N, a redução de lixiviação e o incremento de C no perfil de solo (Abdalla et al., 2019; Notaris et al., 2018) atuando no aumento da porosidade do solo e na estabilização dos agregados (Restovich et al., 2019).

Em situações de cultivo sucessivos de gramíneas na mesma lavoura, pode ocorrer a diminuição de produtividade de grãos, devido a imobilização e lixiviação de nutrientes, principalmente o N. Para atenuar essa dificuldade, a adoção de mixes com misturas de fabáceas e poáceas, possibilitam uma relação C/N e disponibilização de nutrientes de forma mais equilibrada (Abdalla et al., 2019). Chu et al., (2017) estudando espécies solteiras e consorciadas, verificaram que após três anos sob a mistura de fabáceas, poácea e brássicas, houve incrementos na produtividade da soja, no teor de água do solo e do N inorgânico, quando comparado aos demais tratamentos, que apresentavam menor diversidade ou ausência de cobertura de solo.

Nos consórcios é verificado maior produção de MS quando comparada com as espécies em cultivo isolado, devido a diversidade das características entre espécies, onde a competição intraespecífica intensa

pode ser substituída por uma competição interespecífica mais fraca, permitindo melhor expressão das vantagens de diferenciação do nicho ecológico, resultando no melhor aproveitamento de recursos (Elhakeem et al., 2019). Nos consórcios com maior diversidade de espécies, é comum uma planta servir de tutora para outra, com melhor aproveitamento dos recursos naturais, melhor aproveitamento de luz, melhor exploração de camadas distintas de solo, possibilitando a ciclagem de nutrientes no perfil do solo, a rápida cobertura do solo, propiciando o controle de plantas invasoras, menor sensibilidade a estresses abióticos e a diminuição da ocorrência de pragas e doenças (Amado et al., 2014; Koefender et al., 2016). Portanto, a diversidade biológica de exsudatos radiculares e das plantas estimula a diversidade macro e microbiana, reduzindo os riscos de doenças de solo que comumente afetam sistemas solteiros pouco diversos.

As plantas de cobertura analisadas sob a ótica dos bioinsumos (cultura de cobertura associada à FBN) demonstram a necessidade da adoção desta tecnologia na construção e manutenção da fertilidade do solo. Em experimento conduzido na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, PR (Figura 1) os autores demonstraram o potencial de plantas de cobertura na produção de MS e a diferença entre os grupos avaliados. Durante 10 anos foram cultivadas espécies sem adubação mineral com N, tanto na cultura comercial, quanto nas plantas de cobertura. Os resultados demonstraram o potencial das plantas em desenvolver somente com base nas condições de fertilidade do solo. Essa é a condição que ocorre, por exemplo, em áreas da cultura da soja onde o fornecimento de N ocorre via FBN, sendo o N exportado posteriormente para os grãos ou das plantas de cobertura integrantes do sistema que nesse caso mantém os níveis de N no solo disponíveis para a cultura comercial.

Em estudo avaliando a taxa de decomposição com *litter bags* (Cassol, 2016) encontrou-se comportamentos distintos entre a proteção do solo promovida pelas plantas de cobertura e a liberação de N pelos resíduos avaliados ao longo de 120 dias (Figura 2).

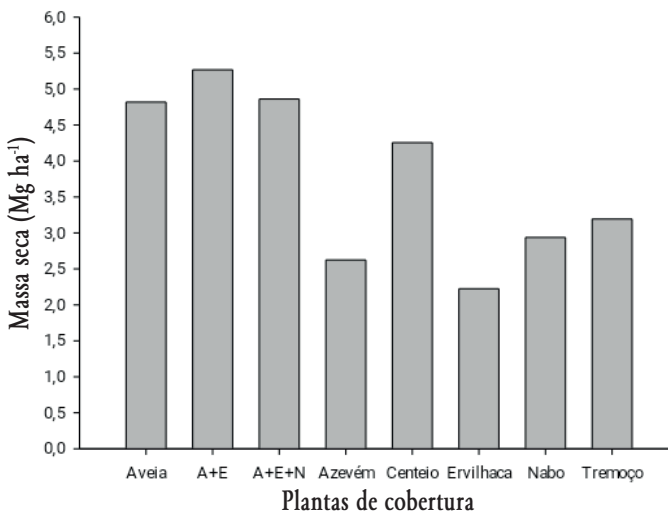


Figura 1. Produção de massa seca de plantas de cobertura na ausência de adubação nitrogenada de 2010 a 2019.

Apesar das leguminosas serem boas fornecedoras de N, estas plantas possuem uma taxa de decomposição acelerada, quando comparada às gramíneas. Por exemplo, os resultados com ervilhaca demonstraram (Figura 2), uma das menores taxas de proteção do solo ao mesmo tempo que possui a maior liberação relativa de N, quando comparado aos demais tratamentos. Por outro lado, a aveia apresenta uma elevada proteção do solo e com liberação intermediária de N. Deste modo, os consórcios resultam na melhor proteção do solo e na liberação de N para a cultura do milho, quando comparados às espécies cultivadas de forma isolada.

A partir de um sistema ideal, utilizado como referência, podemos calcular os índices de liberação de N e da permanência dos resíduos para cada sistema de cobertura conforme proposto por Cassol, (2019). Assim, o equilíbrio entre as funções desempenhadas pelas plantas de coberturas pode ser mensurado de maneira mais apropriada pelo Índice de Qualidade do Resíduo (IQR) (Figura 3). Este índice baseia-se na capacidade de proteção do solo, por meio da permanência de resíduos na superfície e na liberação de N em relação a um sistema ideal. O sistema ideal, consiste em um grupo de plantas de cobertura, composto pela planta de cobertura com maior capacidade de permanência de resíduos na superfície do solo, além, de propiciar a maior liberação de N ao longo de um período de avaliação. O índice é apresentado em valores de 0 a 1, e quanto mais próximo de 1, maior será o equilíbrio do sistema de cobertura entre a liberação de N e permanência de resíduos na superfície do solo.

Deste modo, foi verificado que os sistemas em consórcio A+E+N (Aveia, Ervilhaca e Nabo) apresentaram o maior valor de equilíbrio, com 74 % da máxima permanência de resíduos e da liberação de N para cultura do milho em sucessão entre os sistemas avaliados. Adicionalmente, se destaca o

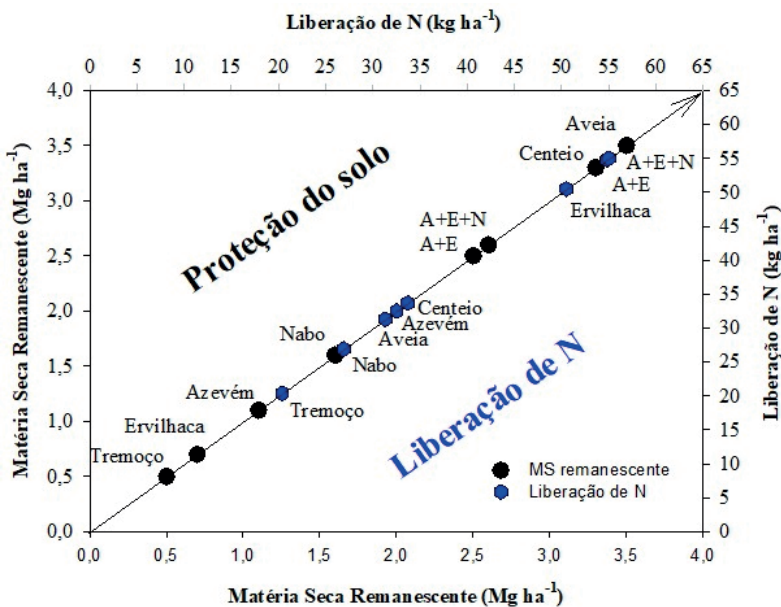


Figura 2. Análise do equilíbrio entre liberação de N e da proteção da superfície do solo, considerando a maior liberação de N (55 kg ha⁻¹) e maior quantidade de MS remanescente no solo (3.500 kg ha⁻¹) aos 120 dias. A+E+N= Aveia+Ervilhaca+Nabo; A+E= Aveia + ervilhaca

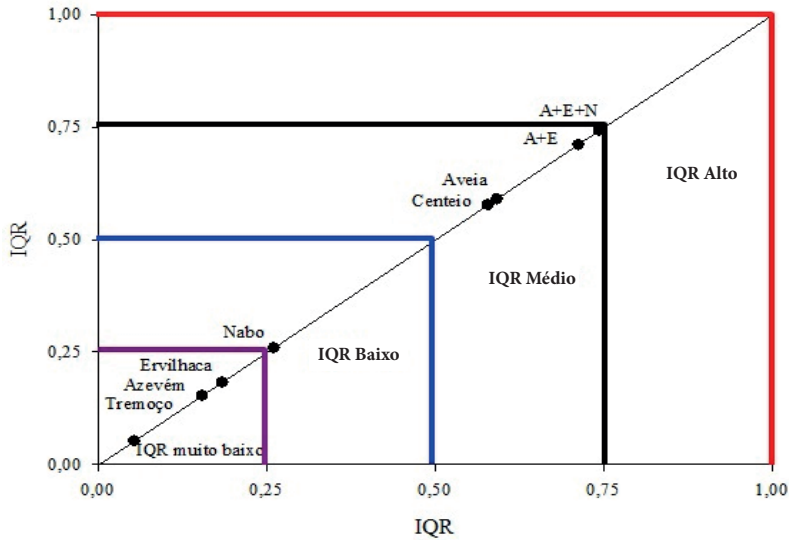


Figura 3. Índice de qualidade de resíduos (IQR) de plantas de cobertura (dados médios das safras 2017/2018 e 2018/2019). Esquema teórico para análise de equilíbrio entre liberação de N e da proteção pela permanência dos resíduos na superfície do solo. A+E+N= Aveia+Ervilhaca+Nabo; A+E= Aveia+Ervilhaca.

consórcio A+E (Aveia e Ervilhaca) com 71% seguido pela aveia com 58% da maior quantidade de MS remanescente e N liberado.

Esses resultados evidenciam que os consórcios entre A+E+N, seguido pelo consórcio A+E, constituem uma alternativa promissora para aumentar a sustentabilidade dos sistemas de produção, por meio da permanência de resíduos para proteção do solo contra a erosão, e da liberação de N para a cultura do milho de forma mais equilibrada. Com isso, reforça-se a tendência atual do uso de plantas de cobertura como melhoradoras da fertilidade e da proteção do solo.

A dinâmica do fósforo associado às plantas de cobertura

O fósforo (P) é um dos nutrientes essenciais às plantas. Em solos intemperizados o P pode apresentar reduzida disponibilidade, com pH ácido e a presença de óxidos e hidróxidos de ferro e alumínio (Fink et al., 2016). Solos, como os do Brasil podem apresentar valores de P total de aproximadamente 1000 mg dm⁻³, contudo apenas uma pequena fração encontra-se disponível para as plantas (Teles et al., 2017). Com o histórico de cultivos observa-se o acúmulo nos teores de P do solo (Pavinato et al., 2020), mas esse aumento de P não é sempre atrelado a eficiência de uso, uma vez que, além de sofrer interação com os componentes do solo está sujeito às perdas nos sistemas de produção via erosão ou mesmo a retenção.

As fontes de P utilizadas são, em sua maioria, importadas de outros países (Anda, 2017), e as rochas brasileiras atualmente exploradas, possuem baixo teor do nutriente e menor solubilidade. Fontes de fósforo, uso de plantas de cobertura, sistema de plantio direto, utilização de bactérias solubilizadoras de

P e a variação do pH do solo são estratégias que podem ser utilizadas para melhorar a eficiência desse nutriente (Pavinato et al., 2020). Com isso, busca-se reduzir a dependência de importação de fertilizantes fosfatados, além de garantir a disponibilidade do nutriente para que os sistemas de produção possam ser competitivos e não ter perda de produtividade.

O fosfato natural (FN) consiste basicamente na rocha fosfática moída, sem passar por tratamento químico, apresentando eficiência mediana nos primeiros cultivos anuais. No entanto, ao passar dos anos, tende a ter boa disponibilidade de P, principalmente se situado em solos ácidos, o que propicia maior eficiência de uso (Sousa et al., 2010). Fontes insolúveis em água, como fosfatos naturais, tendem a apresentar menor eficiência de uso se comparado as fontes solúveis, o que leva a necessidade de maiores quantidades do produto a ser aplicado, aumentando custos de produção, transporte e exportação (Soltangheisi et al., 2018). Contudo, são fontes que apresentam efeito residual maior e de longo prazo, podendo ser alternativas aos sistemas de produção. Características como pH do solo devem ser consideradas no uso dessas fontes, uma vez que fontes menos solúveis, como FN, depende de certa acidez do solo para que seja disponibilizado o P (Nelson; Janke, 2007).

Buscar melhorar a solubilidade de fosfatos e a ciclagem de P por meio do uso de plantas de cobertura é uma das alternativas à problemática do uso deste nutriente, pois observam-se diferentes adaptações entre espécies vegetais e taxas de ciclagem de P (Maltais-Landry, 2014). Exsudatos orgânicos de raízes de plantas, especialmente em condições de deficiência de P, podem aumentar de maneira direta ou indireta (associação com bactérias) a disponibilidade de P para a planta (Merbach et al., 2010), o que caracteriza a possibilidade de algumas espécies vegetais apresentarem tolerância a níveis baixos de P do solo. Essas plantas podem ser utilizadas como forma de extração de P do solo de camadas superficiais ou profundas, sendo liberados posteriormente como P orgânico para o sistema de produção, num processo de ciclagem e melhor eficiência de uso do nutriente.

Respostas do uso de fontes menos solúveis devem ser embasadas em experimentos de longa duração e são informações importantes para os sistemas de produção agrícola, seja sistemas orgânicos, que carecem de informações de fontes naturais ou sistemas convencionais, que buscam maior sustentabilidade e estabilidade da fertilidade do solo.

Soltangheisi et al. (2018) observaram o efeito do nabo forrageiro na extração de P (Figura 4) mostrando a capacidade de plantas de cobertura na ciclagem do nutriente, especialmente considerando o uso de fosfato natural. Os pesquisadores verificaram a extração de aproximadamente 270 kg ha⁻¹ de P entre os anos de 2009 à 2014, numa média de cerca de 45 kg ha⁻¹ de P por ano. Para produzir uma tonelada de soja e milho é extraído de 6,1 e 3,9 kg P, respectivamente (Pauletti; Motta, 2017). Essa ciclagem via planta de cobertura pode suprir a demanda estimada dessas culturas na região de estudo para potenciais superiores a 4 t ha⁻¹ de soja e de 10 t ha⁻¹ de milho. Portanto, o estudo retrata o potencial das plantas de cobertura na ciclagem de P, reduzindo a potencialidade de fixação desse nutriente nos óxidos e hidróxidos presentes nesses solos.

Contudo, devemos considerar que a eficiência do uso de P é menor quando comparado com uso de fontes solúveis (Figura 5). No mesmo protocolo experimental da figura 4, Soltangheisi et al. (2020), observaram na média 48% para uso de superfosfato simples e 22% para uso de fosfato natural no

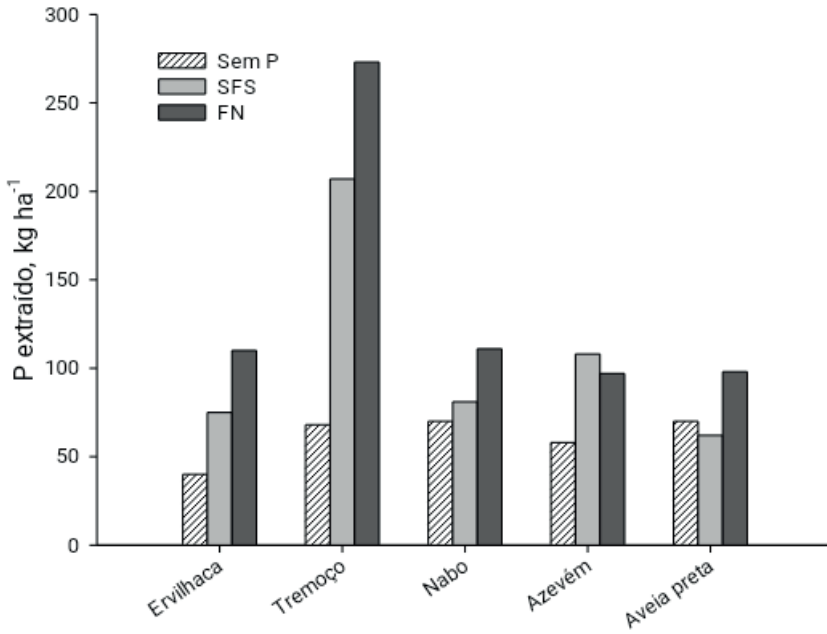


Figura 4. Extração acumulada de fósforo por culturas de cobertura de inverno de 2009 a 2014 sob culturas de cobertura e fonte de P

Fonte: adaptado de Soltangheisi et al., 2018.

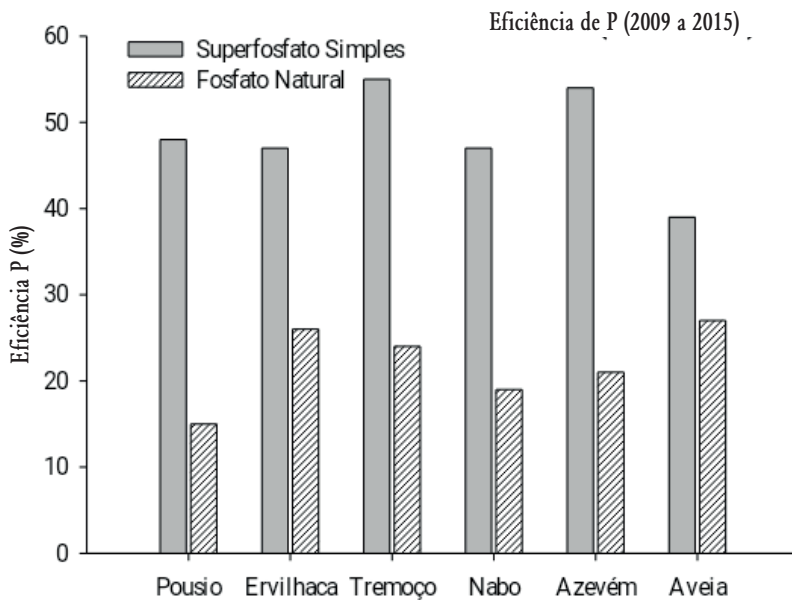


Figura 5. Eficiência de P (%) após 9 anos no sistema de cultivo recebendo superfosfato simples e fosfato natural sob cultivo de plantas de cobertura e pousio

Fonte: adaptado de Soltangheisi et al., 2020.

balanço de P. Notadamente, com uso de fosfato natural, a resposta é positiva ao uso em plantas de cobertura (Figura 5), considerando ainda que experimentos com fontes insolúveis em água, como fosfatos naturais, precisam de mais tempo de estudo para expressarem as respostas na eficiência, devido a lenta disponibilização de P.

Plantas de cobertura e bioinsumos

É notório que o uso de plantas de cobertura melhora a diversidade biológica do solo, promovendo o aumento de microrganismos benéficos (Benitez et al., 2007, Frasier et al., 2016), com a consequente redução de agentes patogênicos, além de promover a proteção do solo. Algumas espécies de plantas de cobertura podem atuar diretamente sobre os patógenos, inibindo o estabelecimento ou a multiplicação (Curto et al., 2016). Outro fator a ser considerado é o efeito das plantas de cobertura, na quebra do ciclo dos patógenos, reduzindo a fonte de inóculo, pelo uso de espécies não susceptíveis, ou servindo como barreiras físicas na redução de dispersão de esporos, prática muito empregada no manejo do mofo-branco na cultura da soja (Peltier et al., 2012).

Avaliando plantas de cobertura como ervilhaca, sorgo e centeio e a interferência na diversidade biológica, Frasier et al. (2016) observaram que a ervilhaca promoveu o maior índice de diversidade, e a rotação ervilhaca-sorgo, foi melhor que somente sorgo ou quando associado com centeio. Mbuthia et al. (2015), em estudo realizado por 31 anos, considerando as plantas de cobertura de trigo e ervilhaca, observaram a melhoria biológica do solo, com destaque para o incremento de bactérias Gram-positivas, actinomicetos e fungos micorrízicos. Adicionalmente, o efeito da melhoria da diversidade biológica associada às plantas de cobertura foi avaliado por Benitez et al. (2007), em sistema de cultivo com transição orgânica de soja, onde a supressão de doenças de solo foi associada à presença de bactérias benéficas do gênero *Burkholderia*, *Bacillus*, *Paenibacillus* e *Streptomyces*.

Wen et al. (2017) avaliaram a supressão de fungos de solo na cultura da soja em função do uso de diferentes plantas de cobertura, sendo o centeio (*Secale cereale*), mostarda (*Brassica juncea*) e canola (*Brassica napus*) em sistema de manejo orgânico e convencional. Observaram que o uso de centeio e canola melhoraram o desempenho das plantas, quando o solo foi inoculado com *Rhizoctonia solani* e diminuíram os níveis de nematoides de cisto da soja (*Heterodera glycines*). O centeio ainda demonstrou redução de *Fusarium virguliforme* em bioensaios em casa de vegetação.

Culturas de cobertura na família Brassicaceae são relatadas com ação aleloquímicas, por produzirem elevados níveis de glucosinolatos (Bangarwa et al., 2011), e quando incorporados ao solo, podem alterar a comunidade microbiana (Mbuthia et al., 2015), podendo ser tóxicos para um amplo espectro de organismos e com ação sobre o nematoide *Meloidogyne incognita* (Curto et al., 2016).

O uso de plantas de cobertura em sistemas de cultivo intensivo como no Brasil, com predominância de soja e milho, pode ser uma alternativa importante para a redução de fungos de solo. Leandro et al. (2018), avaliaram durante 6 anos, os sistemas de rotação milho-soja-aveia + trevo vermelho e milho-soja-aveia + alfafa-alfafa sobre *Fusarium virguliforme*. Os resultados demonstraram redução em até 17 vezes de morte súbita por *F. virguliforme*, bem como, o acréscimo em produtividade. Áreas infectadas com *Fusarium* sp. em sistemas de cultivo de soja e posterior milho safrinha, podem intensificar o problema

fitopatológico, como observado em estudos de milho-soja, comum no meio-oeste dos Estados Unidos, o que ocasionou um aumento, em vez da diminuição da população de *F. virguliforme* no solo (Navi; Yang 2016).

Para *Sclerotinia sclerotiorum*, na cultura da soja o papel das plantas de cobertura no controle do mofo-branco, também já foi evidenciado, reduzindo a germinação carpopêgica ou servindo de barreira física, com resultados positivos utilizando braquiária (Gorgen, et al., 2009; Venturoso, et al., 2013), capim Congo - *Urochloa ruziziensis* (Civardi et al., 2019) e aveia (Kurl et al., 2001). Outro fator a se considerar é o efeito das plantas de cobertura na melhoria e estabilidade dos agentes de controle biológico, como por exemplo, *Trichoderma* e *Bacillus*, utilizados no controle de mofo-branco, assunto abordado no capítulo 18.

O uso de plantas de cobertura associado com produtos biológicos tem demonstrado contribuir no manejo de nematoides, assunto abordado no capítulo 20. Dentre os nematoides mais importantes estão os nematoides das galhas, com destaque para as espécies de nematoides das galhas, *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*, os nematoides das lesões radiculares, especialmente *Pratylenchus brachyurus* e *P. zaeae*, o nematoide de cisto da soja, *H. glycines*, e o nematoide reniforme, *Rotylenchulus reniformis*.

É importante observar o comportamento desses nematoides, em função das plantas de cobertura, uma vez que existem particularidades em relação a preferência, podendo ser um fator de redução ou até aumento de população de nematoides na lavoura. Os nematoides das galhas e das lesões destacam-se por apresentarem uma maior gama de hospedeiros.

Trabalho realizado por Debiasi et al. (2016) avaliaram diversas espécies de plantas de cobertura sobre o controle de *P. brachyurus*, e observaram que o cultivo de *Crotalaria spectabilis*, solteira ou consorciada ao milho 'ADR 300' foram as melhores opções para a redução da população do nematoide e dos danos causados à soja.

Estudo realizado por Acharya et al., (2020) utilizando quatro famílias de plantas de cobertura, e um total 35 espécies, foram avaliadas para o controle do nematoide de cisto, os resultados demonstraram que as culturas hospedeiras pertencem as famílias Brassicaceae ou Fabaceae, enquanto, as culturas da família Linaceae ou Poaceae testadas não foram hospedeiras. Tais resultados condizem com os dados obtidos por Pedersen et al. (1991), que avaliaram diversas espécies gramíneas de inverno como centeio, trigo e avevém, na redução de população de *H. glycines* e *Pratylenchus* spp., sendo que o avevém foi o que apresentou melhores resultados.

Pesquisas recentes e detalhadas no capítulo 20, conduzidas por Dias-Arieira e colaboradores, demonstraram reduções da população de *M. javanica* quando a soja foi tratada com agentes biológicos e cultivada sob palhada de aveia, milho e trigo, entretanto, os melhores resultados foram verificados com a utilização de braquiária.

Para o controle de *R. reniformis*, vários estudos vêm sendo conduzidos. Guertal et al., (1998) avaliaram a interferência de diferentes espécies de plantas de cobertura, sendo que obtiveram efeito somente com o uso de centeio.

Ainda devemos considerar a interferência das plantas de cobertura sobre as doenças da parte aérea na cultura da soja, haja visto que doenças de final de ciclo, como mancha-alvo (*Corynespora cassiicola*),

crestamento-de-cercospora e mancha-púrpura da semente (*Cercospora kikuchii*), mancha-parda ou septoriose (*Septoria glycines*) e antracnose (*Colletotrichum truncatum*), cujos patógenos possuem característica saprofítica, e a forma de sobrevivência encontra-se no solo e na palhada. Portanto, a utilização de agentes de controle biológico associado a diversidade de palhada, permite uma supressão do inóculo inicial e consequentemente a redução das doenças, conforme abordado no capítulo 19.

Para o manejo de doenças da cultura da soja é importante considerar o manejo integrado, considerando as plantas de cobertura, como componentes desse processo, associado ao uso de agentes biológicos e métodos culturais. Nesse sentido, a supressão de doenças está relacionada com a melhoria das atividades biológicas do solo (capítulo 14).

Adubação orgânica e saúde do solo

O solo é o principal responsável por fornecer nutrientes e água às plantas, distinguindo a capacidade de fornecimento conforme as suas características e propriedades químicas, físicas e biológicas. O solo é considerado fértil quando tem capacidade de fornecer nutrientes em quantidade adequada à demanda das plantas (Raij et al., 1981), garantindo o desenvolvimento vegetativo e a produção de grãos, fibras, frutos, madeira, dentre outros. De acordo com Muzilli et al. (1997), a disponibilidade e equilíbrio de nutrientes, a acidez e/ou salinidade, a dinâmica da MO, a atividade biológica, a produtividade das culturas e/ou dos animais são importantes indicadores da saúde (qualidade) do solo. No entanto, quando o solo não supre as demandas das plantas por nutrientes em quantidade e no momento correto, podendo comprometer suas funções ecossistêmicas, a adubação se faz necessária.

Conforme a natureza do fertilizante, independente da sua solubilidade, a adubação pode ser mineral, quando utiliza fontes minerais ou inorgânicas de nutrientes, como remineralizadores (calcário, pó de rocha) e rochas tratadas termicamente (termofosfato) (Brasil, 2016) ou quimicamente (superfosfato simples e superfosfato triplo) e fertilizantes sintéticos como a ureia, sulfato de amônio, mono e diamônio fosfato (Brasil, 2018); ou adubação orgânica, quando utiliza fontes orgânicas (substâncias químicas com ligação C-H) de nutrientes, como fertilizante orgânico, destacando os dejetos de animais sólidos e líquidos, resíduos orgânicos de indústrias, compostos orgânicos oriundos de compostagem e vermicompostagem, lodo de esgoto, ou uso de biofertilizantes, que são produtos que contêm nutrientes ou agente orgânico, isento de contaminantes, capaz de atuar, direta ou indiretamente, sobre o todo ou parte das plantas cultivadas, elevando a sua produtividade, sem ter em conta o seu valor hormonal ou estimulante, norteados pela instrução normativa Nº 61, de 8 de julho de 2020 (Brasil, 2020).

Comumente utiliza-se o termo “adubação química” ou “fertilizante químico” para designar fertilizantes minerais solúveis e para contrapor a adubação utilizada em sistemas orgânicos ou agroecológicos de produção. Contudo, esses termos são equivocados, pois todos os fertilizantes são constituídos de moléculas químicas, seja de origem orgânica ou mineral, diferindo apenas na presença de moléculas com ligação C-H, característico de substâncias orgânicas. Além disso, mesmo em sistemas orgânicos de produção é utilizado fertilizante ou corretivos minerais com diferentes níveis de solubilidade, como os remineralizadores calcário e pó de rocha, além de sulfato de cobre, urina de animais, cinzas, dentre outros. Assim, ao invés de utilizar o termo “adubação química”, recomenda-se utilizar o termo “adubação mineral

solúvel” para contrapor a adubação utilizada em sistemas orgânicos e agroecológicos de produção.

Outra preocupação com nomenclaturas de fertilizantes orgânicos e minerais está relacionado ao decreto Nº 10.375, de 26 de maio de 2020 (Brasil, 2020b) que institui o Programa Nacional de Bioinsumos e o Conselho Estratégico do Programa Nacional de Bioinsumos. Neste documento consta que Bioinsumos podem ser considerados produto, processo ou tecnologia de origem vegetal, animal ou microbiana, que interfiram positivamente no crescimento, no desenvolvimento e no mecanismo de resposta de animais, de plantas, de microrganismos e de substâncias derivadas e que interajam com os produtos e os processos físico-químicos e biológicos. Assim, bioinsumo também poderia ser considerado fertilizantes orgânicos ou biofertilizantes, o que cria confusão com microrganismos promotores do crescimento de plantas (inoculantes) e agentes microbiológicos de controle (AMC). Salienta-se que fertilizantes orgânicos, biofertilizantes e inoculantes tem origem biológica, contudo, não podem ter no termo bioinsumo a mesma legislação e nomenclatura norteadora, pois tem distintos processos de produção, industrialização e utilização, além de serem normatizados por diferentes legislações. Nesse sentido, o conceito de bioinsumos deve ser utilizado para insumos de origem microbiana, especificamente.

A produção de fertilizantes minerais solúveis deixa grande passivo ambiental, pois aqueles oriundos de rochas necessitam ser minerados, o que altera drasticamente o ambiente com a retirada da vegetação natural, a geração de rejeitos e o comprometimento da paisagem, além de posteriormente passar pela solubilização com tratamentos térmicos ou ácidos, que pode gerar mais rejeitos e poluição. Por outro lado, a produção de fertilizantes sintéticos demanda grande quantidade de energia, principalmente de combustíveis fósseis, tendo como exemplo a produção de amônia e sua estabilização em CO_2 , H_2SO_4 ou H_3PO_4 . Em conjunto, 50% dos fertilizantes fosfatados, 70% dos nitrogenados e 85% do potássicos utilizados no Brasil são importados (ANDA, 2017), o que deixa o país refém da oscilação do câmbio e de conflitos internacionais, que podem comprometer o fornecimento de fertilizantes para os agricultores, como o que aconteceu na safra brasileira 2021/22 e que tem previsão de continuar na safra 2022/23.

Além disso, a elevada solubilidade dos fertilizantes minerais pode acarretar a falta de sincronismo entre a liberação do nutriente no solo e a quantidade demandada pelas plantas, possibilitando a perda de N para a atmosfera e recursos hídricos e de P para os recursos hídricos superficiais, sendo o principal problema associado a eutrofização (Sharpley; Wang, 2014). Também a adsorção de P por solos com elevado teor de argila, principalmente óxidos de ferro e alumínio, pode diminuir a eficiência de uso do nutriente pelas plantas.

O grande diferencial no uso de fertilizantes orgânicos é o reaproveitamento de resíduos gerados por outras atividades econômicas, sejam elas agrícolas ou industriais, com potencial de impacto ambiental se descartado de forma inadequada. Como vantagens, o uso de fertilizantes orgânicos na agricultura está na redução de custos na produção, quando o resíduo é de fácil acesso, e uso em substituição aos adubos minerais (Woodard; Sollenberger, 2011); cumprimento da legislação ambiental; implantação de um sistema sustentável; e redução de uso das reservas finitas de adubos e de energia não renovável (Lana et al., 2010).

O uso de dejetos de animais na agricultura representa uma fonte de nutrientes para o desenvolvimento das plantas e sua aplicação nas lavouras tem se elevado nos últimos anos, particularmente no sul do

Brasil (Bertol et al., 2011). Para Moraes et al. (2014), a importância da utilização de fontes orgânicas em substituição parcial ou total da adubação mineral está na melhoria das propriedades químicas, físicas e biológicas do solo e da produção agrícola, além de promover uma destinação ambientalmente adequada aos resíduos orgânicos resultantes da ação humana.

Bertol et al. (2011) perceberam que a lixiviação de K, Ca e Mg foi maior com adubação mineral comparado ao adubo orgânico, mesmo tendo sido aplicado menos K via adubo mineral, demonstrando que a dinâmica de liberação de nutrientes a partir de dejetos de animais é diferente dos fertilizantes minerais solúveis. Moraes et al. (2014) verificaram que a utilização durante dois anos de composto orgânico em lavouras de milho e girassol, sob SPD, favoreceu a agregação do solo e incrementou linearmente o teor de carbono orgânico e N total do solo, comparativamente à fertilização mineral.

Considerado o efeito da adubação orgânica sobre atributos biológicos, Vinhal-Freitas et al. (2010) citam que as comunidades microbianas no solo são reforçadas e estimuladas pela adição de resíduos orgânicos, especialmente devido à presença de nutrientes e compostos C prontamente disponíveis. A aplicação de lodo de esgoto urbano, lodo de esgoto de laticínios e resíduos da indústria de polpa de frutas teve um impacto positivo no quociente metabólico, carbono e nitrogênio da biomassa microbiana, com pouca perda de CO₂ e crescimento da população microbiana (Boechat et al., 2012). Vinhal-Freitas et al. (2010) verificaram que o uso de composto orgânico aumentou a respiração microbiana, o C da biomassa microbiana, a atividade de β -glicosidase e fosfatase no solo, além de diminuir o qCO₂, o que indica maior eficiência no uso de energia pela comunidade microbiana. Em conjunto, Alves et al. (2008) concluíram que a maior diversidade da macrofauna do solo foi encontrada com adubação organomineral comparada as adubações isoladas, demonstrando que a macrofauna edáfica foi beneficiada pela adição do fertilizante mais balanceado.

Contudo, o uso de fertilizante orgânico pode ter o mesmo impacto ambiental que fertilizantes minerais solúveis, pois a concentração de nutrientes pode ser elevada, conforme a sua fonte e seu processamento. Os riscos ambientais irão depender da composição do resíduo, da quantidade aplicada, da capacidade de extração da planta, do tipo de solo e do tempo de utilização dos resíduos (Seganfredo, 1999; Seganfredo, 2011). Os principais poluentes de ambientes aquáticos associados à aplicação de dejetos de animais no solo são o N, P, MO e metais pesados (Chadwick; Chen, 2002). A sobrecarga do solo com aplicação de dejetos ou fertilizantes minerais aumenta a disponibilidade de P, promovendo sua perda para os corpos d'água e aumentando o risco de eutrofização (Gatiboni et al., 2020). Além disso, a grande produção de dejetos nos confinamentos deixa ao produtor como principal alternativa o descarte desses no solo como fertilizante orgânico (Alves et al., 2008).

O descarte de cama de aves como fertilizante no solo pode propiciar a poluição do ambiente se não houver critérios adequados e monitoramento para o uso (Lana et al., 2010; Seganfredo, 2011), uma vez que os resíduos orgânicos apresentam vários nutrientes que se encontram em quantidades desproporcionais em relação à necessidade das plantas. Da mesma forma, os dejetos líquidos de suínos e bovinos, por serem diluídos em água e gerados principalmente em pequenas propriedades rurais com pouca área agrícola disponível, acabam distribuídos no solo como uma forma de descarte sem a devida preocupação com relação às quantidades, ao modo e à época de aplicação. Por isso, o seu uso como fertilizante às culturas,

particularmente como fonte de P e N pode resultar em poluição ambiental, pois quando esgotada a capacidade de suporte do solo em receber N (Luo et al., 2010) ou P (Gatiboni et al., 2015; Gatiboni et al., 2020), o excedente do N aplicado com os dejetos pode ser perdido, tanto para a atmosfera nas formas gasosas de amônia (NH_3) e óxido nitroso (N_2O), como para águas de subsuperfície, por lixiviação de nitrato (NO_3^-) e de superfície, como amônio (NH_4^+) e N orgânico via escoamento, enquanto o P atingirá os recursos hídricos, elevando os teores do nutriente nos sedimentos (Abboud et al., 2018). Isso levou a criação do limite crítico ambiental de P (LCA-P) para nortear as aplicações de dejetos de suínos nos estados de Santa Catarina (Gatiboni et al., 2015) e do Rio Grande do Sul (Gatiboni et al., 2020).

Além disso, a concentração e solubilidade dos nutrientes presentes nos fertilizantes orgânicos é bastante variável em função da sua origem, forma de produção, armazenamento e tratamento, o que dificulta a criação de tabelas de recomendação de adubação como as existentes para os fertilizantes minerais solúveis. Ademais, os fertilizantes orgânicos podem ter a presença de organismos patogênicos e fármacos (Hooda et al., 2000), que agravam o impacto do seu uso em determinados sistemas agrícolas, como *Salmonella* spp., *Clostridium* spp. (Dai Pra et al., 2009), coliformes (Orrico Junior et al., 2010), dentre outros.

A utilização de manejos de solo que estimulem a biologia do solo, como a adubação orgânica, pode direta e indiretamente melhorar os seus atributos químicos e físicos. As mudanças nos atributos microbiológicos do solo precedem modificações nas propriedades químicas e físicas, refletindo um claro sinal em sua melhoria ou degradação (Biswas et al., 2017). Ao mesmo tempo, a distribuição dos microrganismos no solo é norteadada por processos e condições físicas, químicas e biológicas do solo, tornando as comunidades microbianas um sistema auto-organizado que consegue se adaptar às condições ambientais constantemente em alterações (König et al., 2020). Para Young e Crawford (2004), o complexo solo-microrganismos é auto-organizado, pois enquanto a atividade microbiana é moldada pelas condições físicas, químicas e biológicas em nível de microescala, a atividade microbiana altera esses mesmos atributos químicos e físicos.

O solo é a principal reserva microbiana do planeta, onde uma quantidade enorme de processos biofísicos e bioquímicos ocorrem e são necessários para sustentar todos os outros níveis tróficos da biosfera (Young; Crawford, 2004). Assim, tomando os devidos cuidados no uso e manejo de fertilizantes orgânicos e biofertilizantes, a adubação orgânica é imprescindível para a melhoria da saúde do solo, pois adiciona nutrientes e matéria orgânica com diferentes labilidades, principal substrato dos microrganismos, estimulando a vida otimizando os ciclos biogeoquímicos e melhorando a fertilidade do solo.

Referências

ABBOUD, F. Y.; FAVARETTO, N.; MOTTA, A. C. V.; BARTH, G.; GOULARTE, G. D. Phosphorus mobility and degree of saturation in oxisol under no-tillage after long-term dairy liquid manure application. *Soil and tillage research*, v.177, p. 45-53, 2018.

ABDALLA, M.; HASTINGS, A.; CHENG, K.; YUE, Q.; CHADWICK, D.; ESPENBERG, M.; TRUU, J.; REES, R. M.; SMITH, P. A critical review of the impacts of cover crops on nitrogen leaching, net greenhouse gas balance and crop productivity. *Global Change Biology*, v. 25, n. 8, p. 2530-2543, 2019.

- ACHARYA, K.; YAN, G.; BERTI, M. T. Evaluation of diverse cover crops as hosts of two populations of soybean cyst nematode, *Heterodera glycines*, **Crop Protection**, v. 135, e. 105205, 2020. DOI: 10.1016/j.cropro.2020.105205
- AITA, C.; BASSO, C. J.; CERETA, C.A.; GONÇALVES, C. N.; DA ROS, C.O. Plantas de cobertura de solo como fontes de nitrogênio ao milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 25, p. 157-165, 2001.
- AITA, C.; GIACOMINI, S. J.; HÜBNER, A. P.; CHIAPINOTTO, I. C.; FRIES, M. R. Consorciação de plantas de cobertura antecedendo o milho em plantio direto. I - Dinâmica do nitrogênio no solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, p. 739-749, 2004.
- ALVARENGA R. C.; CRUZ, J. C.; VIANA, J. H. M. **Cultivo do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008.
- ALVES, M. V.; SANTOS, J. C. P.; DE GOIS, D. T.; ALBERTON, J. V.; BARETTA, D. Macrofauna do solo influenciada pelo uso de fertilizantes químicos e dejetos de suínos no oeste do estado de Santa Catarina. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 32, p. 589-598, 2008.
- AMADO, T. J. C.; FIORIN, J. E.; ARNS, U.; NICOLOSO, R. da. S.; FERREIRA, A. de. O. Adução verde na produção de grãos e no sistema de plantio direto. IN: LIMA FILHO, O. F. de.; AMBROSANO, E. J.; ROSSI, F.; CARLOS, J. A. D (Eds.). **Adução Verde e Plantas de Cobertura no Brasil**. Fundamentos e Prática. Brasília, DF: Embrapa, v.2, 83 p., 2014.
- AMBROSANO, E. J.; ROSSI, F.; GUIRADO, N.; SCHAMMASS, E. A.; MURAOKA, T.; TRIVELIN, P. C. O.; AMBROSANO, G. M. B. Adução verde na agricultura orgânica. IN: LIMA FILHO, O.F. de.; AMBROSANO, E.J.; ROSSI, F.; CARLOS, J.A.D. (Eds.). **Adução Verde e Plantas de Cobertura no Brasil**. Fundamentos e Prática. Brasília, DF: Embrapa, v.1, 507 p., 2014.
- ANDA - Associação Nacional para Difusão de Adubos. **Indicadores** - Fertilizantes entregues ao mercado. 2017. Disponível em: www.anda.org.br/index.php?mpg=03.00.00. Acesso em: 09 fev. 2022.
- BANGARWA, S. K.; NORSWORTHY, J. K.; MATTICE, J. D.; GBUR, E. E. Glucosinolate and isothiocyanate production from brassicaceae cover crops in a plasticulture production system. **Weed Science**, v.59, p. 247-254, 2011.
- BAYER, C.; MIELNICZUK, J. Características químicas do solo afetadas por métodos de preparo e sistemas de cultura. **Revista Brasileira Ciências do Solo**, v. 21, p. 105-112, 1997a.
- BAYER, C.; MIELNICZUK, J. Nitrogênio total de um solo submetido a diferentes métodos de preparo e sistemas de cultura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 21, p. 235-239, 1997b.
- BENÍTEZ, M. S.; TUSTAS, F. B.; ROTENBERG, D.; KLEINHENZ, M. D.; CARDINA, J.; STINNER, D.; MILLER, S. A.; GARDENER, B. B. M. Multiple statistical approaches of community fingerprint data reveal bacterial populations associated with general disease suppression arising from the application of different organic field management strategies. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 39, p. 2289-2301, 2007.
- BERTOL, O. J.; LANA, M.C.; FEY, E.; RIZZI, N. E. Mobilidade de íons em solo sob sistema de semeadura direta submetido às adubações mineral e orgânica. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, p.1311-1321, 2011.
- BISWAS, S.; HAZRA, G. C.; PURAKAYASTHA, T. J.; SAHA, N.; MITRAN, T.; SINGHA ROY, S.; BASAK, N.; MANDAL, B. Establishment of critical limits of 36 indicators and indices of soil quality in rice-rice cropping systems under different soil orders. **Geoderma**, v. 292, p. 34-48, 2017.
- BOECHAT, C. L.; SANTOS, J. A. G.; ACCIOLY, A. M. A.; BOMFIM, M. R.; SANTOS, A. C. Industrial and urban organic wastes increase soil microbial activity and biomass. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.36, p. 1629-1636, 2012.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 5 de 10 de março de 2016. Estabelece regras sobre definições, classificação, especificações e garantias, tolerâncias, registro, embalagem, rotulagem e propaganda dos remineralizadores e substratos para plantas, destinados à agricultura. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, n 49, 14 mar. 2016. Seção 1, p. 10. 2016.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 39 de 8 de agosto de 2018. Estabelece regras sobre definições, exigências, especificações, garantias, registro de produto, autorizações, embalagem, rotulagem, documentos fiscais, propaganda e tolerâncias dos fertilizantes minerais destinados à agricultura. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, n 154, 10 ago. 2018. Seção 1, p. 19. 2018.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 61 de 8 de julho de 2020. Estabelece regras sobre definições, exigências, especificações, garantias, tolerâncias, registro, embalagem e rotulagem dos fertilizantes orgânicos e dos biofertilizantes, destinados à agricultura. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, n 134, 15 jul. 2020. Seção 1, p. 5. 2020a.
- BRASIL. Decreto nº 10.375 de 26 de maio de 2020. Institui o Programa Nacional de Bioinsumos e o Conselho Estratégico do Programa Nacional de Bioinsumos. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, n 100, 27 mai. 2020. Seção 1, p. 105. 2020b.
- CALEGARI, A. Plantas de cobertura: Alternativas de culturas para rotação em plantio direto. **Revista Plantio Direto**, ano XIII, n. 80, p.62-70, 2004.
- CASSOL, C. **Plantas de cobertura e adubação nitrogenada como fontes de nitrogênio à cultura do milho em plantio direto**. 2019. 86 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2019.

- CASSOL, C. **Teor de N-mineral no solo e produtividade do milho sob plantas de cobertura em plantio direto**. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2016.
- CHADWICK, D. R.; CHEN, S. Manures. In: HAYGARTH, P. M.; JARVIS, S. C. (Eds.). **Agriculture, hidrology and water quality**. Wallingford: CABI Publishing, p. 57-82. 2002.
- CHERUBIN, M. R.; FABBRIS, C.; WEIRICH, S. W.; DA ROCHA, E. M. T.; BASSO, C. J.; SANTI, A. L.; LAMEGO, F. P. Desempenho agrônômico do milho em sucessão a espécies de cobertura do solo sob sistema plantio direto no sul do Brasil. **Global Science and Technology**, v. 7, n. 1, p. 76-85, 2014.
- CHU, M.; JAGADAMMA, S.; WALKER, F. R.; EASH, N. S.; BUSCHERMOHLE, M. J.; DUNCAN, L. A. Effect of Multispecies Cover Crop Mixture on Soil Properties and Crop Yield. **Agricultural & Environmental Letters**, v.2, n.1, e-170030, 2017.
- CIVARDI, E.; GÖRGEN, C.; RAGAGNIN, V.; NUNES, A. S. N.; CARNEIRO, L.; LOBO JUNIOR, M. Management of Congo grass cover crop affects timing of *Sclerotinia sclerotiorum* carpogenic germination and decay of soybean stem rot. **Tropical Plant Pathology**, v. 44, p. 1-10, 2019.
- CONCEIÇÃO, P. C.; AMADO, T. J. C.; MIELNICZUK, J.; SPAGNOLLO, E. Qualidade do solo em sistemas de manejo avaliada pela dinâmica da matéria orgânica e atributos relacionados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, n.5, p. 777-788, 2005.
- CURTO, G.; DALLAVALLE, E.; MATEO, R.; LAZZERI, L. Biofumigant effect of new defatted seed meals against the southern root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. **Ann. Appl. Biol.** v. 169, p. 17-26, 2016.
- DAHLEM, A. R. **Plantas de cobertura de inverno em sistemas de produção de milho sob plantio direto no sudoeste do Paraná**. 2013. 94 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2013.
- DAI PRA, M. A.; CORRÊA, E. K.; ROLL, V. F.; XAVIER, E. G.; LOPES, D. C. N.; LOURENÇO, F. F.; ZANUSSO, J. T.; ROLL, A. P. Uso de cal virgem para o controle de *Salmonella* spp. e *Clostridium* spp. em camas de aviário. **Ciência Rural**, v. 39, n. 4, p. 1189-1194, 2009.
- DEBIASI, H.; FRANCHINI, J. C.; DIAS, W. P.; RAMOS JUNIOR E. U.; BALBINOT JUNIOR, A. A. Práticas culturais na entressafra da soja para o controle de *Pratylenchus brachyurus*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.51, n.10, p.1720-1728, 2016.
- DONEDA, A.; AITA, C.; GIACOMINI, S. J.; MIOLA, E. C. C.; GIACOMINI, D. A.; SCHIRMANN, J.; GONZATTO, R. Fitomassa e decomposição de resíduos de plantas de cobertura puras e consorciadas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, p. 1714-1723, 2012.
- DORAN, J. W.; PARKIN, T. B. Defining and assessing soil quality. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D.C.; BEZDOCEK, D.F.; STEWART, B.A. (Eds). **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: Soil Science Society of America, 1994. p. 3-22. (Publication Number 35).
- DUXBURY, J. M.; SMITH, M. S.; DORAN, J. M. Soil organic matter as a source and a sink of plant nutrients. In: COLEMAN, D.C.; OAEDES, J.M.; UEHARA, G. (Eds.) **Dynamics of soil organic matter in tropical ecosystems**. Honolulu: University of Hawaii, 1989. p. 33-67.
- ELHAKEEM, A.; VAN DER WERF, W.; AJAL, J.; LUCÁ, D.; CLAUS, S.; VICO, R. A.; BASTIAANS, L. Cover crop mixtures result in a positive net biodiversity effect irrespective of seeding configuration. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 285, e-106627, 2019.
- FINK, J. R.; INDA, A. V.; TIECHER, T.; BARRÓN, V. Iron oxides and organic matter on soil phosphorus availability. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 40, n. 4, p. 369-379, 2016.
- FRASIER, I.; NOELLEMEYER, E.; FIGUEROLA, E.; ERJMAN, L.; PERMINGEAT, H.; QUIROGA, A. High quality residues from cover crops favor changes in microbial community and enhance C and N sequestration. **Global Ecology and Conservation**, v. 6, p. 242-256, 2016.
- GATIBONI, L. C.; SMYTH, T. J.; SCHMITT, D. E.; CASSOL, P. C.; OLIVEIRA, C. M. B. **Proposta de limites críticos ambientais de fósforo para solos de Santa Catarina**. Lages: UDESC/CAV, 2014. 38 p.
- GATIBONI, L. C.; NICOLOSO, R. S.; MUMBACH, G. L.; SOUZA, A. A.; DALL'ORSOLETTA, D. J.; SCHMITT, D. E.; SMYTH, T. J. Establishing environmental soil phosphorus thresholds to decrease the risk of losses to water in soils from Rio Grande do Sul, Brazil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v. 44, e-0200018, 2020.
- GIACOMINI, S. J.; AITA, C.; CHIAPINOTTO, I. C.; HÜBNER, A. P.; MARQUES, M. G.; CADORE, F. Consorciação de plantas de cobertura antecedendo o milho em plantio direto. II - Nitrogênio acumulado pelo milho e produtividade de grãos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.28, p.751-762, 2004.
- GÖRGEN, C. A.; SILVEIRA-NETO, A. N.; CARNEIRO, L. C.; RAGAGNIN, V.; LOBO-JUNIOR, M. Controle do mofo-branco com palhada e *Trichoderma harzianum* 1306 em soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n.12, 2009.
- GUERTAL, E.; SIKORA, E.; HAGAN, A.; RODRÍGUEZ-KÁBANA, R. Effect of winter cover crops on populations of southern root-knot and reniform nematodes. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 70, n. 1, p.1-6, 1998.
- HARRIS, R. F.; BEZDICEK, D. F. Descriptive aspects of soil quality/health. IN: DORAN, J.W. et al (ed). **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: SSSA and ASA, SSSA Spec. Public. 35. 1994. p.23-35

- HOODA, P. S.; EDWARDS, A. C.; ANDERSON, H. A.; MILLER, A. A review of water quality concerns in livestock farming areas. **The Science of the Total Environment**, v. 250, p. 143-167, 2000.
- KOEFENDER, J.; SCHOFFEL, A.; MANFIO, C. E.; GOLLE, D. P. Biomass and nutrient cycling by winter cover crops. **Revista Ceres**, v. 63, n. 6, p. 816-821, 2016.
- KÖNIG, S.; HANS-JÖRG, V.; HAUKE, H.; ANJA, W. Physical, Chemical and Biological Effects on Soil Bacterial Dynamics in Microscale Models. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 8, p. 53, 2020. DOI: 10.3389/fevo.2020.00053
- KÖNIG, S.; VOGEL, H.G.; HARMS, H.; WORRICH, A. Physical, Chemical and Biological Effects on Soil Bacterial Dynamics in Microscale Models. **Frontier in Ecology and Evolution**, v. 8, 2020. DOI: 10.3389/fevo.2020.00053
- KURLE, E. J.; GRAU, C. R.; OPLINGER, E. S.; MENGISTU, A. Tillage, Crop Sequence, and Cultivar Effects on *Sclerotinia* Stem Rot Incidence and Yield in Soybean. **Agronomy Journal**, v. 93, n. 5, p. 973-982, 2001.
- LANA, R. M. Q.; ASSIS, D. F.; SILVA, A.A.; LANA, A. M.Q.; GUIMARAES, E.C.; BORGES, E.N. Alterações na produtividade e composição nutricional de uma pastagem após segundo ano de aplicação de diferentes doses de cama de frango. **Bioscience Journal**, v. 26, n. 2, p. 249-256, 2010.
- LEANDRO, L. F. S.; EGGENBERGER, S.; CHEN, C.; WILLIAMS, J.; BEATTIE, G. A.; LIEBMAN, M. Cropping System Diversification Reduces Severity and Incidence of Soybean Sudden Death Syndrome Caused by *Fusarium virguliforme*. **Plant Disease**, v. 102, n. 9, p. 1748-1758, 2018.
- LUO, J.; DE KLEIN, C.; LEDGARD, S.; SAGGAR, S. Management options to reduce nitrous oxide emissions from intensively grazed pastures: A review. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 136, p. 282-291, 2010.
- MALTAIS-LANDRY G.; SCOW K.; BRENNAN E. Soil phosphorus mobilization in the rhizosphere of cover crops has little effect on phosphorus cycling in California agricultural soils. **Soil Biology & Biochemistry** v. 78, p. 255-262, 2014.
- MBUTHIA, L. W.; ACOSTA-MARTINEZ, V.; DEBRYUN, J.; SCHAEFFER, S.; TYLER, D.; ODOI, E.; MPHESHEA, M.; WALKER, F.; EASH, N. Long-term tillage, cover crop, and fertilization effects on microbial community structure, activity: Implications for soil quality. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 89, p. 24-34, 2015.
- MERBACH W.; DEUBELB A.; GRANSEEC A.; RUPPELD S.; KLAMROTHA A. K. Phosphorus solubilization in the rhizosphere and its possible importance to determine phosphate plant availability in soil. A review with main emphasis on German results. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 56, n. 2, p. 119-138, 2010.
- MICHELON, C. J.; JUNGES, E.; CASALI, C. A.; PELLEGRINI, J. B. R.; NETO, L. R.; DE OLIVEIRA, Z. B.; DE OLIVEIRA, M. B. Atributos do solo e produtividade do milho cultivado em sucessão a plantas de cobertura de inverno. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 18, n. 2, p. 230-239, 2019.
- MIELNICZUK, J. Desenvolvimento de sistemas de culturas adaptadas à produtividade, conservação e recuperação de solos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 21. A responsabilidade social da ciência do solo. **Anais**, 1988, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1988, p. 109-116.
- MORAES, M. T.; SILVA, V. R.; CHERUBIN, M. R.; CARLESSO, R.; DEBIASI, H.; LEVIEN, R. Changes in a rhodic hapludox under no-tillage and urban waste compost in the northwest of Rio Grande do Sul, Brazil. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 31, p. 39-49, 2007.
- MUZILLI, O.; BORGES, G. O.; MIRANDA, M. A sustentabilidade agrícola e o plantio direto. In: PEIXOTO, R.T.G.; AHRENS, D.C.; SAMAHA, M.J.: **Plantio direto, o caminho para uma agricultura sustentável**. Ponta Grossa: Instituto Agronômico do Paraná. 1997, p. 48-49.
- NAVI, S. S.; YANG, X. B. Sudden death syndrome - A growing threat of losses in soybeans. **CAB Revista**, v. 11, p. 1-13, 2016.
- NELSON, N. O.; JANKE, R. R. Phosphorus sources and management in organic production systems. **HortTechnology**, v. 17, p. 442-454, 2007.
- NOTARIS, C.; RASMUSSEN, J.; SØRENSEN, P.; OLESEN, J. E. Nitrogen leaching: A crop rotation perspective on the effect of N surplus, field management and use of catch crops. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 255, p. 1-11, 2018.
- ORRICO-JÚNIOR, M. A. P.; ORRICO, A. C. A.; LUCAS-JÚNIOR, J. Compostagem dos resíduos da produção avícola: cama de frangos e carcaças de aves. **Engenharia Agrícola**, v. 30, n. 3, p. 538-545, 2010.
- PAULETTI, V.; MOTTA A. C. V. **Manual de adubação e calagem para o estado do Paraná**. Curitiba: SBSC/NEPAR, 2017. 450 p.
- PAVINATO, P. S.; CHERUBIN M.R.; SOLTANGHEISI A.; ROCHA G. C.; CHADWICK D. R.; JONES D. L. Revealing soil legacy phosphorus to promote sustainable agriculture in Brazil. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, e- 15615. 2020. DOI: 10.1038/s41598-020-72302-1
- PEDERSEN, J. F.; RODRIGUEZ-KABANA, R. Winter grass cover crop effects on nematodes and yields of double cropped soybean. **Plant Soil**, v. 131, p. 287-291, 1991.
- PELTIER, A. J.; BRADLEY, C. A.; CHILVERS, M. I.; MALVICK, D. K.; MUELLER, D. S.; WISE, K. A.; ESKER, P. D. Biology, Yield loss and Control of *Sclerotinia* Stem Rot of Soybean. **Journal of Integrated Pest Management**, v. 3, n. 2, p. 1-7, 2012.

- PIERCE, F. J.; LARSON, W. E.; DOWDY, R. M.; GRAHAM, W. A. P. Productivity of soil assessing long term changes due to erosion. *J. Soil Water Conserv.* v. 38, p. 39-44, 1983.
- PIETERS, A. J. **Green Manuring, Principles and Practice**. Agronomist in Charge of Clover Investigations, Bureau of Plant Industry U. S. Department of Agriculture. 1927. Disponível em: <https://soilandhealth.org/book/green-manuring-principles-and-practice/>: Acesso em: 27 de out. 2021.
- POSSAMAI, E. J.; CONCEIÇÃO, P. C.; AMADORI, C.; BARTZ, M. L. C.; RALISCH R.; VICENSI M.; MARX, E. F. Adoption of the No-Tillage System in Paraná State: A (Re)View. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 46, e0210104, 2022.
- RAIJ, B. van. **Avaliação da fertilidade do solo**. Piracicaba: Instituto de Potassa & Fosfato, Instituto Internacional da Potassa. 1981. 142 p.
- RESTOVICH, S. B.; ANDRIULO, A. E.; ARMAS-HERRERA, C. M.; BERIBE, M. J.; PORTELA, S. I. Combining cover crops and low nitrogen fertilization improves soil supporting functions. *Plant and Soil*, v. 442, p. 401-417, 2019.
- ROSSI, F.; CARLOS, J. A. D. Histórico da adubação verde no Brasil. IN: LIMA FILHO, O. F. de.; AMBROSANO, E. J.; ROSSI, F.; CARLOS, J. A. D. (Ed). **Adubação Verde e Plantas de Cobertura no Brasil**. Fundamentos e Prática. Brasília, DF: Embrapa, v. 2, 2014, 83 p.
- SALTON, J. C.; MIELNICZUK, J. Relações entre sistemas de preparo, temperatura e umidade de um Podzólico Vermelho-Escuro de Eldorado do Sul (RS). *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 19, p. 313-319, 1995.
- SEGANFREDO, M. A. **A adubação com dejetos de suínos melhora ou polui o solo?** Disponível em: www.suinos.com/emb/cnpsa-00001.htm. Acesso em: 23 ago. 2011.
- SEGANFREDO, M. A. Os dejetos de suínos são um fertilizante ou um poluente do solo? *Caderno de Ciência & Tecnologia*, Brasília, v. 16, n. 3, p. 129-141, 1999.
- SHARPLEY, A. N.; WANG, X. Managing agricultural phosphorus for water quality: lessons from the USA and China. *Journal Environmental Science*, v. 26, p. 1770-1782, 2014.
- SILVA, I.F.; MIELNICZUK, J. Avaliação do estado de agregação do solo afetado pelo uso agrícola. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, v. 21, p. 313-319, 1997.
- SOLTANGHEISI, A.; RODRIGUES, M.; COELHO, M. J. A.; GASPERINI, A. M.; SARTOR, L. R.; PAVINATO, P. S. Changes in soil phosphorus lability promoted by phosphate sources and cover crops. *Soil & Tillage Research*. v. 179, p. 20-28, 2018.
- SOLTANGHEISI A.; TELES A. P. B.; SARTOR L. R.; PAVINATO P. S. Cover Cropping May Alter Legacy Phosphorus Dynamics Under Long-Term Fertilizer Addition. *Frontiers in Environmental Science*, v. 8, p. 13, 2020.
- SOUSA, D. M. G.; THOMAZ A. R.; WENCESLAU, J. G.; LOBATO, E.; NUNES, R. S.; Fósforo. In: PROCHNOW, L.L.; CASARIN, V.; STIPP, S.G. (Eds). **Boas práticas para uso eficiente de fertilizantes**. Piracicaba: IPNI - Brasil, v. 2, p. 67-132, 2010.
- TELES, A. P. B.; RODRIGUES, M.; BEJARANO HERRERA, W. F.; SOLTANGHEISI, A.; SARTOR, L. R.; WITHERS, P. J. A.; PAVINATO, P. S. Do cover crops change the lability of phosphorus in a clayey subtropical soil under different phosphate fertilizers? *Soil Use and Management*, v. 33, n. 1, p. 34-44, 2017.
- VENTUROSO, L. R.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L.; VENTUROSO, L. A. C.; ESPINDOLA, D. L. P.; SANTOS, J. A. E. Produção de soja e germinação caropégenica de *Sclerotinia sclerotiorum* sob diferentes coberturas de solo. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 34, n. 2, p. 615-626, 2013.
- VINHAL-FREITAS, I. C.; WANGEN, D. R. B.; FERREIRA, A. S.; CORRÊA, G. F.; WENDLING, B. Microbial and enzymatic activity in soil after organic composting. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, v. 34, p. 757-764, 2010.
- WEN, L.; LEE-MARZANO, S.; ORTIZ-RIBBING, L. M.; GRUVER, J.; HARTMAN, G. L.; EASTBURN, D. M. Suppression of soilborne diseases of soybean with cover crops. *Plant Disease*, v. 101, n. 11, p. 1918-1928, 2017.
- WOODARD, K.; SOLLENBERGER, L. E. Broiler Litter vs. Ammonium nitrate as nitrogen source for bermudagrass hay production: Yield, Nutritive value, and nitrate leaching. *Crop Science*, v. 51, p. 1342-1352, 2011.
- WUTKE, E. B.; CALEGARI, A.; WILDNER, L. P. Espécies de adubos verdes e plantas de cobertura e recomendações para seu uso. In: LIMA FILHO, O. F. de.; AMBROSANO, E. J.; ROSSI, F.; CARLOS, J. A. D. (Ed). **Adubação Verde e Plantas de Cobertura no Brasil**. Fundamentos e Prática. Brasília, DF: Embrapa, v. 1, 2014, 507 p.,
- YOUNG, I. M.; CRAWFORD, J. W. Interactions and self-organization in the soil-microbe complex. *Science*, v. 304, 1634-1637. 2004.
- ZIECH, A. R. D.; CONCEIÇÃO, P. C.; LUCHESE, A. V.; BALIN, N. M.; CANDIOTTO, G.; GARMUS, T. G. Proteção do solo por plantas de cobertura de ciclo hibernal na região Sul do Brasil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 50, n. 5, p. 374-382, 2015.
- ZIECH, A. R. D. **Sistema de produção de milho sob adubação nitrogenada e plantas de cobertura do solo**. 85 f. Tese (Doutorado em Agronomia - Produção Vegetal) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2016.

Saúde do solo, tecnologia BioAS e a sustentabilidade agrícola

*Iéda Carvalho Mendes
Guilherme Montandon Chaer
Fábio Bueno dos Reis Junior
Ozanival Dario Dantas
Maria Inês L. de Oliveira
André Alves de Castro Lopes
Leandro Moraes de Souza*

Introdução

O solo abriga a maior biodiversidade do planeta. Trata-se de um verdadeiro universo paralelo e pouco conhecido. Estima-se que em um único grama de solo possa existir cerca de 1 bilhão de bactérias, 1 milhão de actinomicetos e 100 mil fungos. Nessa mesma quantidade de solo, podem ser encontradas de 2000 a 8,3 milhões de espécies de microrganismos (Gans et al., 2005; Schloss; Handelsman, 2006). Independente do grau de conservadorismo da estimativa utilizada, esses valores dão uma ideia da imensa diversidade genética e metabólica das comunidades microbianas do solo e, conseqüentemente, da diversidade de processos em que elas atuam. Além de invisíveis ao olho nu, a maior parte das espécies microbianas que habitam o solo não crescem em meios de cultura nos laboratórios. Por essas razões, um solo saudável pode ser considerado uma excelente “biofábrica”, pois, mantém uma microbiota diversa, em equilíbrio e desempenhando variadas funções essenciais para os ecossistemas, sejam eles naturais ou agrícolas.

Ao romper a monocultura, o aumento da diversidade de plantas nos agroecossistemas (agrobiodiversidade), por meio de sucessões/rotações de culturas, pelo uso de coquetéis de diferentes espécies vegetais e de sistemas integrados como a integração lavoura-pecuária (ILP) e a integração lavoura-pecuária-floresta (ILPF), aumenta a resiliência dos sistemas agrícolas, minimizando a sua vulnerabilidade aos estresses bióticos e abióticos. Entre os vários benefícios advindos da agrobiodiversidade, do ponto de vista da microbiologia do solo, pode-se destacar o aumento na diversidade microbiana, diminuindo a proliferação de microrganismos patogênicos e aumentando populações de micróbios benéficos (Larkin, 2015; Vukicevich et al., 2016). O resultado final é a melhoria na saúde do solo, com conseqüente reflexo na saúde das plantas e dos animais que dele dependem, reforçando a máxima “solos saudáveis, plantas, pessoas e animais saudáveis.”

Até julho de 2020, quando um agricultor enviava uma amostra de solo para análise em laboratório ele podia acessar apenas os aspectos de química (componentes de acidez, macro e micronutrientes) e alguns aspectos de física de solo (em grande parte determinações, dos teores de argila, silte e areia). Havia uma grande lacuna nas análises de solo que era a ausência do componente biológico, que é a base da saúde do solo.

Enquanto as plantas, por meio da fotossíntese, fazem a conexão da atmosfera com o solo, os microrganismos são os responsáveis diretos pelo “funcionamento” do solo participando de processos que vão desde a sua gênese, até a decomposição de resíduos orgânicos, resultando na reciclagem dos nutrientes minerais utilizados pelas plantas e depositados em seus tecidos. Paralelamente, os microrganismos também atuam nos processos que resultam na formação da matéria orgânica do solo (MOS), com consequente sequestro de carbono e mitigação de gases de efeito estufa, além de atuarem na biorremediação de áreas contaminadas por poluentes e agrotóxicos. Essa capacidade do solo funcionar, para a prestação desses importantes serviços ambientais é a base do conceito de qualidade do solo (QS). Por isso, a inclusão de atributos ligados ao componente biológico (aqui denominados bioindicadores) nas avaliações de QS era primordial.

Um solo saudável é um solo biologicamente ativo, produtivo, capaz de armazenar água, sequestrar carbono e promover a degradação de pesticidas, entre outros importantes serviços ambientais. A despeito de sua importância para a humanidade, o interesse pelo tema qualidade ou saúde do solo é relativamente recente (Doran; Parkin, 1994) e inovou ao destacar a importância do funcionamento do solo não só para a produção biológica mas também para o funcionamento global dos ecossistemas. Aspectos relacionados à saúde das pessoas, plantas e animais (solos saudáveis, ambientes saudáveis) e a qualidade do ar e da água (armazenamento e filtragem de água, sequestro de carbono, etc), deixam claro que a qualidade do solo vai muito além da produção de grãos, carne, madeira, agroenergia, fibras. Por isso, é possível ter um solo com baixa qualidade, mas cujas elevadas produtividades estejam relacionadas a entradas cada vez mais elevadas de insumos como adubos e pesticidas, uma condição que não é sustentável em longo prazo.

No caso específico do Brasil, a expansão e uso continuado de sistemas de manejo conservacionistas, como o sistema de plantio direto (SPD) e a ILP, com destaque para a inserção das braquiárias e outras gramíneas forrageiras nos sistemas agrícolas tropicais, foi um marco fundamental para a construção de um ambiente edáfico biologicamente mais ativo e saudável. A integração de pastagens (ILP) e florestas (ILPF) às áreas sob cultivos de grãos em semeadura direta, aumentou a complexidade dos agroecossistemas tropicais e alterou as relações entre os vários componentes do sistema agrícola. A expansão e a adoção por longos períodos de sistemas de manejo conservacionistas como o SPD e a ILP também permitiu verificar que os aumentos de produtividade das culturas ou a manutenção da produção frente a situações ambientais adversas, muitas vezes não são explicados pelos resultados das análises químicas de solos (Drinkwater; Snapp, 2007; Nicolodi et al., 2008; Mendes et al., 2017, 2020). Essa constatação de que solos quimicamente semelhantes podem apresentar desempenhos diferenciados, demonstrou a necessidade da inclusão de atributos relacionados ao funcionamento biológico do solo (bioindicadores) nas análises de rotina (Figura 1).

A Tecnologia Embrapa de Bioanálise de Solo (BioAS), lançada em julho de 2020, veio preencher a lacuna causada pela ausência do componente biológico nas análises de solo. A BioAS consiste na agregação de duas enzimas, relacionadas ao funcionamento da maquinaria biológica do solo, às análises químicas tradicionais de rotina (pH, H+Al, P, Ca, K, Mg, etc.). Nos últimos 20 anos, o grupo de pesquisa com Bioindicadores de Qualidade de Solo da Embrapa dedicou-se à seleção de bioindicadores robustos, que permitissem que o agricultor brasileiro pudesse monitorar a saúde de seu solo, sabendo exatamente o que avaliar, porque avaliar, como avaliar, quando avaliar e, principalmente, como interpretar o que foi avaliado (Mendes et al. 2019a). Como resultado desses estudos, as atividades de duas enzimas presentes no solo, a arilsulfatase e a β -glicosidase (associadas aos ciclos do S e C) foram selecionadas e tabelas de interpretação foram desenvolvidas.

O uso de sistemas de manejo que degradam o solo, levam ao seu adoecimento. A tecnologia BioAS permite ao agricultor saber se o sistema de manejo adotado na propriedade agrícola está promovendo a saúde ou levando ao adoecimento do solo onde ele cultiva suas lavouras. Até o presente momento a tecnologia BioAS está calibrada para áreas sob cultivos anuais, onde o carro chefe é a cultura da soja.

Como acessar a memória do solo e avaliar sua saúde

O grau de revolvimento mecânico, juntamente com a qualidade e a quantidade dos resíduos vegetais que são aportados ao solo, ao interferirem nas interações dos diversos componentes dos sistemas agrícolas,

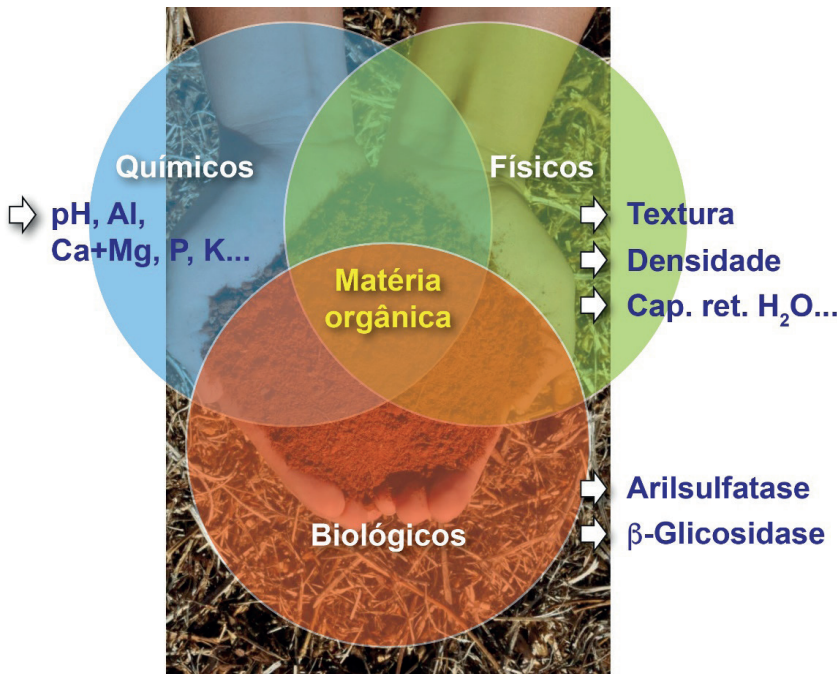


Ilustração: Fabiano Marques Dourado Bastos. Foto: Wellington Cavalcanti

Figura 1. A Tecnologia Embrapa de Bioanálise de Solo (BioAS), que consiste na agregação de dois indicadores relacionados ao funcionamento da maquinaria biológica do solo (enzimas arilsulfatase e β -glicosidase), preencheu a lacuna deixada pela ausência do componente biológico nas análises de rotina de solo.

fazem com que os diferentes sistemas de manejo deixem sua impressão digital, sua assinatura biológica, no solo (Figura 2). A capacidade que o solo tem de guardar em sua “memória” o tipo de manejo ao qual ele é submetido está intimamente relacionada à sua parte viva, ao seu componente biológico. Assim, além dos aspectos relacionados à saúde do solo, as determinações de atividade enzimática são uma das vias de acesso à “memória” do solo.

O acesso à memória do solo, por meio de determinações da atividade enzimática, é possível devido ao fato de que a atividade enzimática de um solo é o somatório da atividade de enzimas dos organismos vivos (microrganismos, plantas e animais) e de gerações passadas de organismos que estiveram presentes no solo (componente abiótico). As enzimas abiônicas estão associadas à fração não-viva e se acumulam no solo protegidas da ação de proteases por meio de sua adsorção em partículas de argila e na matéria orgânica (MO) (Figura 3) (Wallenstein; Burns, 2011). A capacidade do solo de estabilizar e proteger enzimas está relacionada à sua capacidade de armazenar e estabilizar a MO (afinal a enzima é uma molécula orgânica) e outras propriedades estruturais associadas, como agregação e porosidade. Entretanto, alterações na MO ou de propriedades estruturais do solo podem levar anos para serem detectadas, diferentemente da atividade enzimática (Bandick; Dick, 1999; Dick; Burns, 2011). Por essa razão, o aumento da atividade enzimática (refletindo o aumento na atividade biológica) ao longo do tempo, pode ser um prenúncio de que o sistema está favorecendo o acúmulo de matéria orgânica do solo (MOS), apesar de nem sempre esse aumento de atividade estar acoplado, nos estágios iniciais, a aumentos efetivos nos teores de MOS. A Figura 4 ilustra essa teoria, onde, o aumento na atividade biológica, evidenciado pela atividade enzimática, constitui o primeiro degrau na escala de melhoria de um solo (Figura 4).

Um exemplo emblemático de como o histórico de uso do solo expressa a sua saúde atual é o do experimento de rotação de culturas na soja (RCS), conduzido desde 2008 pela Fundação MT, na estação experimental Cachoeira (Itiquira, MT). Nesse experimento são avaliados oito sistemas de cultivos/produção incluindo o monocultivo, sucessão e rotação de culturas (Mendes et al., 2017, 2020). Na Figura

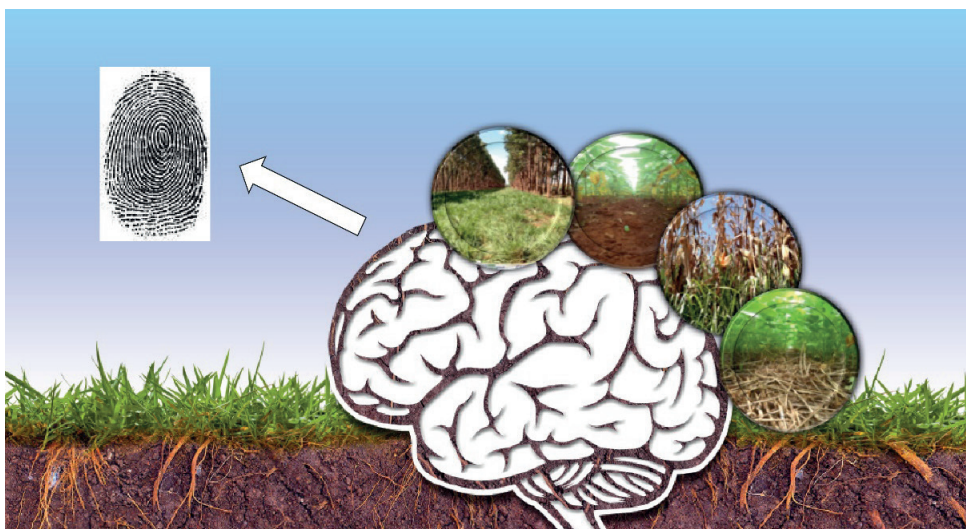


Ilustração: Fabiano Marques Dourado Bastos. Foto: Wellington Cavalcanti

Figura 2. Os sistemas de manejo deixam suas marcas na “memória” do solo.

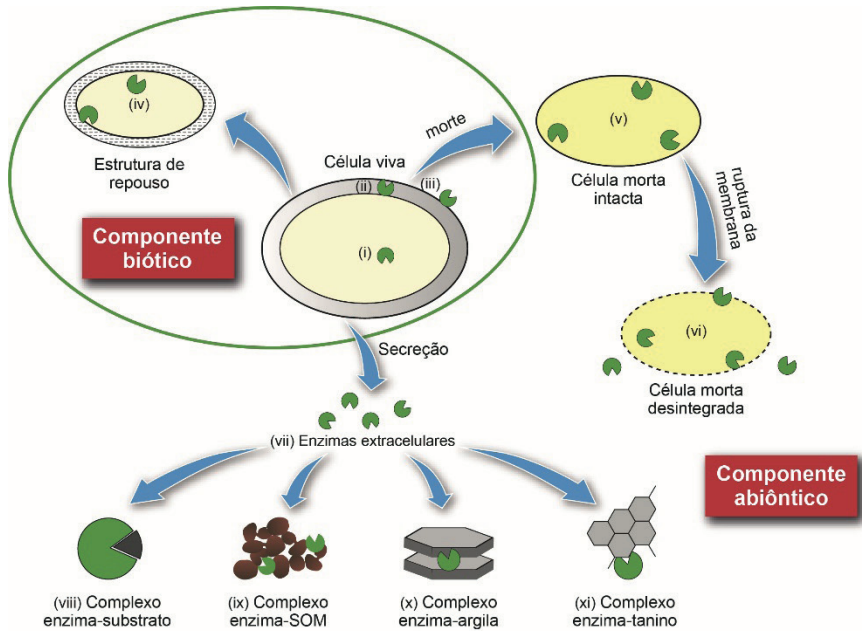


Figura 3. Esquema ilustrativo da localização das enzimas nos compartimentos do solo.

Fonte: adaptado de Wallenstein e Burns 2011.

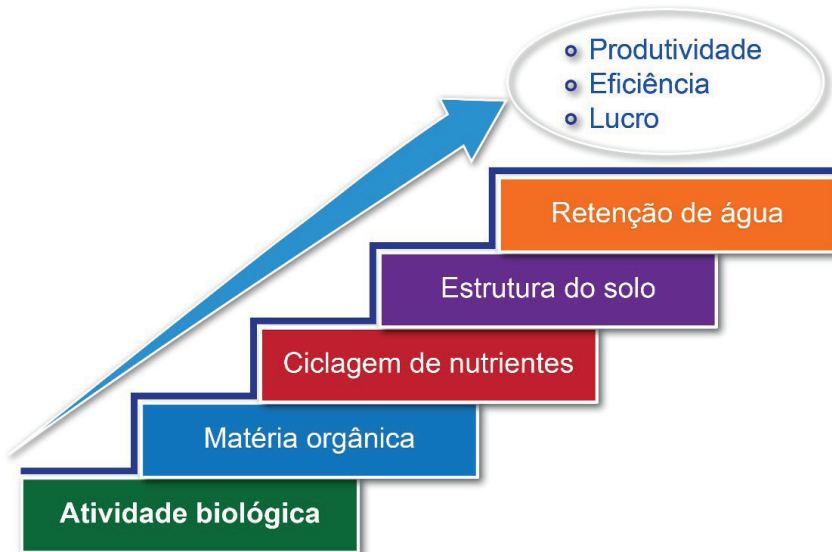


Figura 4. Fluxograma demonstrando que em função do aumento no aporte de resíduos vegetais ao solo, o aumento na atividade biológica é o primeiro degrau na escalada da melhoria de um solo

Fonte: adaptado de Hatfield et al., 2017.

5 é possível visualizar as diferenças entre os tratamentos, com base na cobertura do solo pelos resíduos vegetais, no oitavo ano de cultivo da soja.

Até a safra 2013/2014, as diferenças nas produtividades da soja entre os vários tratamentos não foram muito acentuadas. A produtividade média do monocultivo de soja sob sistema de preparo convencional foi de 61 sc/ha e não diferiu significativamente dos demais tratamentos (Mendes et al., 2017). No entanto, no sétimo ciclo de cultivo (2014/2015), com o uso de uma cultivar superprecoce (TMG 7262 RR, cujo ciclo foi de 98 dias), a ocorrência de um veranico em janeiro de 2015 possibilitou evidenciar, pela primeira vez, o início do declínio dos tratamentos com monocultivo de soja. Na Figura 6, ilustra-se o aspecto geral da soja no tratamento 1 (soja/pousio) e no tratamento 3, em que a cultura é inserida num esquema de sucessão com a braquiária (*U. ruziziensis*), durante o veranico de janeiro de 2015. No tratamento com soja/pousio, a produtividade de grãos foi de 29 sc/ha, enquanto, no tratamento soja/braquiária, a produtividade de grãos foi de 59 sc/ha, ou seja, diferença de 30 sc/ha entre os dois tratamentos. Entretanto, apesar da diferença significativa na produtividade de grãos, as características químicas dos solos (0 cm a 10 cm) desses tratamentos foram semelhantes (Tabela 1). A única exceção

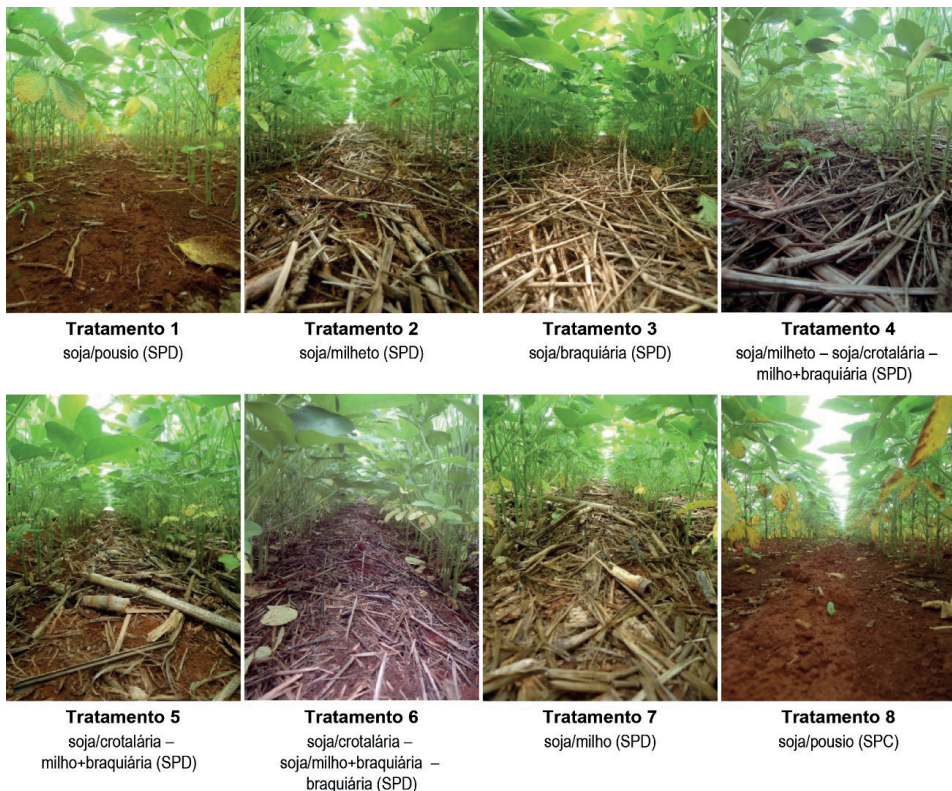


Figura 5. Aspecto visual da cobertura do solo nos tratamentos do experimento de rotação de culturas na soja, em Itiquira - MT, SPD - Sistema de plantio direto; SPC - Sistema de preparo convencional.

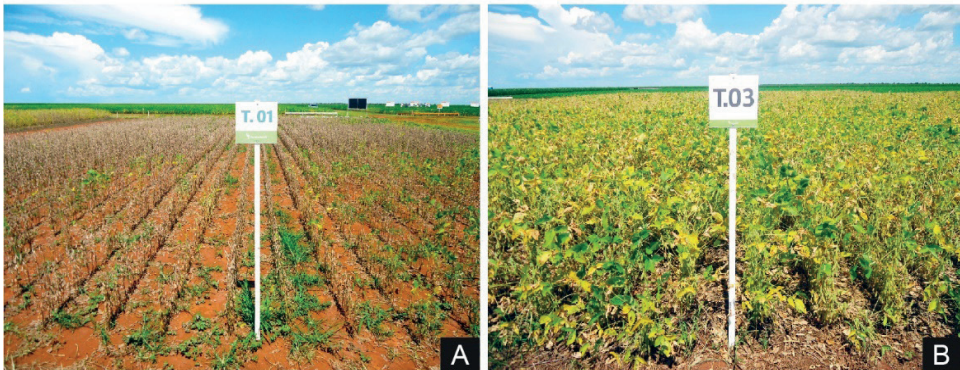
foi a MOS, cujo teor no tratamento com braquiária foi 50% maior que no tratamento soja/pousio. A semelhança entre as características químicas do solo nos dois tratamentos mostra a insuficiência do conceito mineralista, baseado apenas nos teores absolutos dos nutrientes no solo (Nicolodi et al., 2008), para explicar resultados como esses. Áreas com teores semelhantes de nutrientes, mas com produtividades de grãos distintas, evidenciam a importância do componente biológico do solo.

Na Tabela 2, são apresentados, para os dois tratamentos mencionados anteriormente (soja/pousio e soja/braquiária, ambos em SPD), os resultados de atividade enzimática determinados na safra 2015/2016. As amostras de solo foram coletadas na fase de florescimento da soja (dezembro de 2015) e analisadas no laboratório de Microbiologia do Solo da Embrapa Cerrados, em Planaltina, DF. Em relação ao tratamento com monocultivo de soja em PD, o tratamento soja/braquiária apresentou 4,0 e 8,0 vezes mais atividades de β -glicosidase e arilsulfatase, respectivamente.

Embora as duas áreas apresentassem características químicas semelhantes, os resultados de atividade enzimática mostraram que o componente biológico era completamente distinto. O solo biologicamente mais ativo, decorrente da inserção da braquiária no sistema de produção, foi também o mais produtivo. No caso em questão, a estabilidade produtiva do sistema de sucessão de culturas foi mantida pelo aporte de palhada proveniente do uso da braquiária e seus benefícios ao longo do tempo, enquanto, no tratamento sob monocultivo, a ausência de palhada na superfície culminou em visível perda de vigor da

T1 – soja/pousio: 29 sc/ha

T3 – soja/braquiária: 59 sc/ha



Fonte: Mendes, et al., 2018.

Figura 6. Aspecto visual do desenvolvimento da soja (cv. TMG 7262 RR) no veranico da safra 2014/2015, após sete safras consecutivas de monocultivo (A) e em sucessão com braquiária (B) sob SPD, em Itiquira, MT.

Tabela 1. Propriedades químicas do solo, na camada de 0 a 10 cm, nos tratamentos com soja/pousio e soja/braquiária do experimento de rotação de culturas na soja, em Itiquira, MT (safra 2015/2016).

Tratamento	MOS	pH	Al	H+Al	Ca	Mg	P	K
	g/kg	H ₂ O						
Soja/pousio	28,2	6,3	0,0	3,0	3,8	2,2	15	131
Soja/braquiária	42,3	6,4	0,0	2,5	4,4	3,1	16	151

MOS - matéria orgânica do solo (Walkley e Black); H+Al (acetato de cálcio a pH 7,0); Ca, Mg e Al (KCl 1 mol/L); P e K (Mehlich¹).

Tabela 2. Resultado de atividade de β -glicosidase e arilsulfatase na camada de 0 m a 10 cm nos tratamentos com soja/pousio e soja/braquiária sob SPD do experimento de rotação de culturas na soja, em Itiquira, MT (safra 2015/2016).

Atributo microbiológico ¹	Soja/pousio	Soja/braquiária	Diferença
β -glicosidase	64	233	4,0 vezes
Arilsulfatase	28	223	8,0 vezes

¹Valores de atividade de β -glicosidase e arilsulfatase expressos em mg de p-nitrofenol/kg de solo/ha.

soja. Dessa forma, o solo do sistema em rotação com braquiária foi mais tamponante, estável e resiliente, ou seja, suportou melhor uma situação de estresse quando comparado ao solo com o monocultivo.

O comportamento diferenciado das plantas de soja nos tratamentos sob monocultivo e em sucessão a braquiária, reforçam a importância da agrobiodiversidade para a saúde do solo. A melhor forma de transformar o solo em uma biofábrica biologicamente ativa e produtiva é ofertar “alimentos” diversificados e em quantidade adequada, às comunidades microbianas que nele residem. Os benefícios da boa alimentação, em quantidade adequada e com diversidade de alimentos, na saúde e qualidade de vida das pessoas são bastante conhecidos. Como as plantas são as principais fontes de alimentos (resíduos e exsudatos radiculares) para as comunidades microbianas, esse mesmo raciocínio pode ser aplicado a saúde e a qualidade do solo.

Considerando que esse experimento foi iniciado na safra 2008/2009, a bioanálise do solo realizada em 2015 evidenciou a sensibilidade dos bioindicadores arilsulfatase e β -glicosidase para detectar mudanças nos sistemas de manejo, com diferenças bem mais acentuadas que as observadas nos teores de MOS. Entretanto, mais do que isso, esses resultados demonstram claramente a capacidade da atividade enzimática de acessar a “memória” do solo, evidenciando aspectos de saúde do solo que passavam despercebidos nas análises de química de rotina.

Os poderes de um solo saudável: mais resiliência, mais biorremediação, mais ciclagem e menos emissões.

Da mesma forma que uma pessoa saudável tolera melhor uma situação de adversidade, um solo saudável também reage melhor a situações de estresse do que um solo, cuja saúde está comprometida. A resiliência de um solo saudável frente a uma situação de estresse abiótico fica evidente quando se observa o aspecto visual do desenvolvimento da soja no veranico da safra 2014/2015, após sete safras consecutivas de monocultivo e em sucessão com braquiária, no experimento de RCS da Fundação MT (Figura 6). Com base nos sete primeiros anos de condução desse experimento, onde não houve diferença de rendimento de grãos entre os tratamentos soja/pousio e soja/braquiária (Figura 7), fica claro que nem todo solo produtivo é saudável.

Ainda com relação ao experimento RCS da Fundação MT, também se verifica na Figura 7 que, após a ocorrência do veranico no sétimo ano de cultivo, os rendimentos de grãos entre esses dois tratamentos nunca mais foram equiparados. Na safra 2018/2019, a diferença acumulada em termos de sacas de soja entre os tratamentos sob monocultivo e soja/braquiária totalizou 119 sc/ha. Ou seja, o solo do tratamento

soja pousio, cuja saúde está comprometida, ainda não conseguiu recuperar-se totalmente, seis anos após a ocorrência do veranico.

Para reforçar o fato de que a saúde do solo envolve aspectos que transcendem a questão de produtividade das culturas, a Tabela 3 apresenta outra vantagem da manutenção de solos saudáveis e biologicamente ativos. Este estudo (Portilho et al., 2015) foi realizado em condições controladas em laboratório, com solo coletado na profundidade de 0 a 10 cm, no experimento de longa duração de ILP, da Embrapa Agropecuária Oeste. O objetivo foi avaliar a persistência dos inseticidas bifentrina e permetrina no solo. No experimento, os solos foram incubados em microcosmos a 28 °C, com umidade a 75% da capacidade de campo, por um período de 51 dias. Verificou-se que, nos tratamentos com maior atividade enzimática (i.e., maior atividade biológica), houve redução significativa nos valores de meia vida (TD_{50}) dos dois inseticidas (Tabela 3). Dessa forma, fica evidenciada uma outra grande vantagem da manutenção de solos biologicamente mais ativos (como os solos sob ILP) e que normalmente passa despercebida: a capacidade de esses solos reduzirem o período de permanência de agentes poluentes no meio-ambiente. Dados como esses são inclusive a base para várias pesquisas, visando o desenvolvimento de técnicas de biorremediação *in situ* de poluentes de solo com enzimas estabilizadas em fase sólida (Gianfreda; Bollag, 2002).

Além de auxiliar o condicionamento biológico e físico do solo, sistemas de manejo conservacionistas e com elevada atividade enzimática, como a ILP também promovem aumentos na MOS e na eficiência do uso de nutrientes. Para ilustrar esses efeitos, na Figura 8 são apresentados dados de um experimento de longa duração (22 anos), conduzido na Embrapa Cerrados, pelo Dr. Djalma Sousa, onde foram avaliados o manejo da adubação fosfatada (fontes, doses e modos de aplicação) para culturas anuais e pastagem de *Urochloa humidicola* (avaliada em regime de cortes, sem animais), em um Latossolo Amarelo muito argiloso.

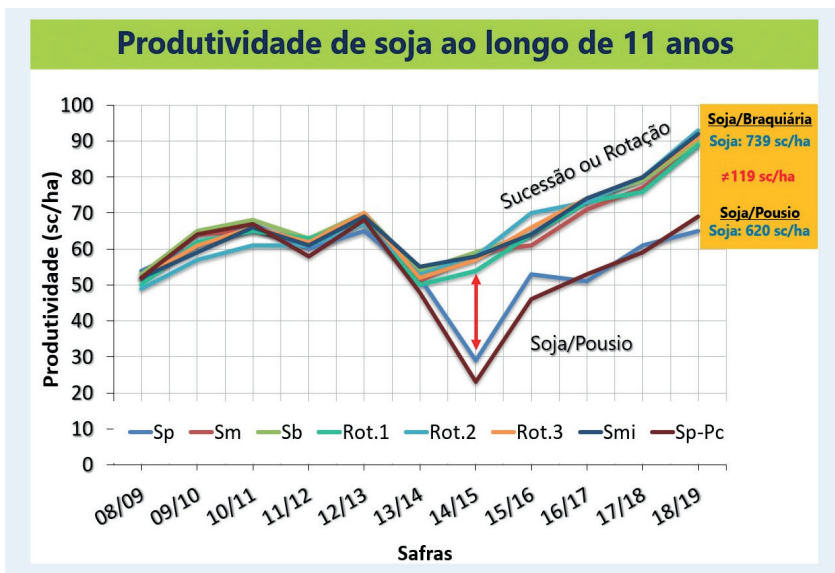


Figura 7. Produtividade da soja no experimento RCS (rotação de culturas na soja) em Itiquira-MT, conduzido sob responsabilidade dos Dr. Leandro Zancanaro e Fábio Ono, pesquisadores da Fundação MT.

Tabela 3. Atividade das enzimas β -glicosidase e fosfatase ácida (média \pm erro padrão), na profundidade de 0 a 10 cm e meia-vida no solo (TD_{50}) de dois inseticidas, sob diferentes sistemas de manejo em Dourados (MS).

Sistema de Manejo*	β -glicosidase	Fosfatase ácida	Bifentrina	Permetrina
	— $\mu\text{g p-nitrofenol g}^{-1} \text{ solo h}^{-1}$ —		— TD 50 (dias) —	
ILP-soja	356 \pm 4,1	1206 \pm 6,8	14	9
ILP-pasto	282 \pm 15,3	649 \pm 4,1	25	21
SPD	188 \pm 2,8	612 \pm 13,6	25	22
SPC	99 \pm 7,8	291 \pm 14,5	44	47

* ILP-soja: integração lavoura-pecuária fase lavoura; ILP-pasto: integração lavoura pecuária fase pastagem; SPD: sistema de plantio direto; SPC: sistema de preparo convencional.

Adaptado de Portilho et al. (2015).

Após o 13º ano, no sistema apenas com culturas anuais (soja por 10 anos, milho por 2 anos, todos sob SPC) e na sucessão cultura anual/braquiária (soja por dois anos, pastagem por 9 anos e soja por 2 anos, sendo os cultivos de soja em SPC), os teores de MOS na camada de 0-20 cm foram de 28,4 e 37,3 g/kg, respectivamente. Essas diferenças influenciaram diretamente no desempenho da soja cultivada no 13º ano, que se mostrou mais eficiente no uso do P residual nos sistemas com braquiária (Figura 8). Nos sistemas com braquiária (pastagem), a soja alcançou produtividades superiores às obtidas nos sistemas contendo apenas culturas anuais, mesmo quando em solos com teores de P extraível similares. Considerando que todos os demais nutrientes foram fornecidos de modo balanceado, esse resultado evidencia uma maior eficiência no uso de P após a inserção da braquiária. Como exemplo, pode-se observar que para produzir 3,0 t ha⁻¹ de grãos de soja no sistema anual foi necessário ter no solo 6 mg dm⁻³ de P extraível, enquanto no sistema anual/pastagem esse valor foi de apenas 3 mg dm⁻³.

Outro benefício que merece destaque, reside no fato de que sistemas ILP emitem menos óxido nitroso (N₂O), um importante gás de efeito estufa (GEE), quando comparados a lavouras em sistema de plantio convencional. Isso vem sendo demonstrado em estudos conduzidos na Embrapa Cerrados (DF) onde resultados de pesquisa revelaram que o uso de gramíneas forrageiras, que aportam matéria orgânica e aprofundam raízes no perfil do solo, promovem a redução das emissões de GEE, assim como a presença de maiores volumes de agregados do solo com maiores diâmetros (Sato et al., 2019). Entre as explicações para esse resultado, observou-se que as braquiárias, forrageiras plantadas para alimentar o gado, depositam matéria orgânica mais difícil de ser degradada e, além disso, a ILP proporciona solos com agregados maiores. Com mais carbono e nitrogênio acumulados nessas partículas, a matéria orgânica presente é protegida da decomposição feita pela microbiota.

Pesquisas anteriores já haviam demonstrado que as emissões de N₂O nos sistemas agrícolas são influenciadas por condições edafoclimáticas (solo, clima, vegetação, entre outras), e que a disponibilidade de MOS é um fator chave no processo. O estudo avança na compreensão de como se dá o acúmulo de frações de MOS estáveis e lábeis (menos estáveis) nos solos sob ILP e as possíveis relações com as emissões de N₂O. As avaliações foram realizadas em 2015, na área do experimento de longa duração em ILP, iniciado em 1991 na Embrapa Cerrados – o mais antigo do Brasil – sob solo argiloso. Foram quantificadas as emissões cumulativas de N₂O por 146 dias ao longo do ciclo da cultura do sorgo (Figura

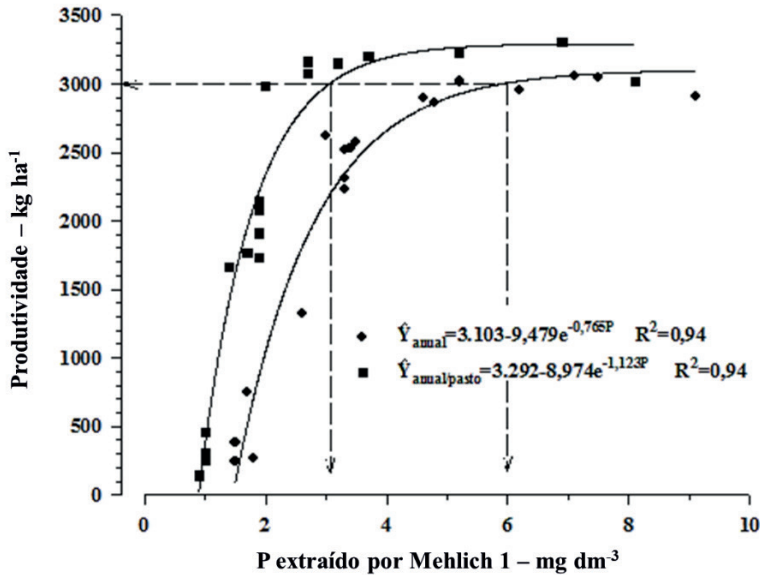


Figura 8. Efeito de sistemas de cultivo com (■) e sem (◆) braquiária na relação entre o fósforo extraível por Mehlich-1 na camada de 0-20 cm de profundidade e a produtividade da soja no 13º cultivo.

Fonte: Sousa et al., 1997.

9). Uma área remanescente de cerrado também foi avaliada como referência. As emissões acumuladas foram maiores no início do ciclo da cultura, em função da fertilização nitrogenada associada à ocorrência de chuvas, com precipitações diárias superiores a 40 mm. As maiores emissões acumuladas ao fim dos 146 dias foram observadas na área com lavoura em plantio convencional, com 1,8 kg/ha de N_2O , enquanto as emissões da lavoura contínua sob plantio direto representaram metade dessa emissão (0,9 kg/ha). Entre as áreas cultivadas, o sistema ILP foi o que apresentou as menores emissões acumuladas de N_2O , com 0,79 kg/ha. Na área de cerrado, considerada a referência positiva do estudo e onde as emissões diárias estão sempre próximas de zero, a emissão acumulada do período representou apenas 11% da emissão da lavoura em plantio convencional, considerada a referência negativa.

Todos esses resultados evidenciam os benefícios enormes advindos da manutenção de solos saudáveis, por meio da inserção de gramíneas como as braquiárias em sistemas de ILP: aumentos de rendimento de grãos, na atividade biológica, nos teores de MOS, na capacidade de armazenamento de água, na eficiência do uso de nutrientes e na redução da emissão de gases de efeito estufa.

Tecnologia Embrapa BioAS

A tecnologia BioAS, lançada em julho de 2020, consiste na análise e interpretação das atividades de β -glicosidase e arilsulfatase, permitindo acessar o funcionamento da maquinaria biológica do solo complementarmente às análises tradicionais de fertilidade do solo. A BioAS também abrange o cálculo do desempenho de três funções essenciais do solo relativas a nutrientes, que consistem na (1) função ciclar, (2) função armazenar e (3) função suprir. A função de ciclagem de nutrientes é base para o cálculo do

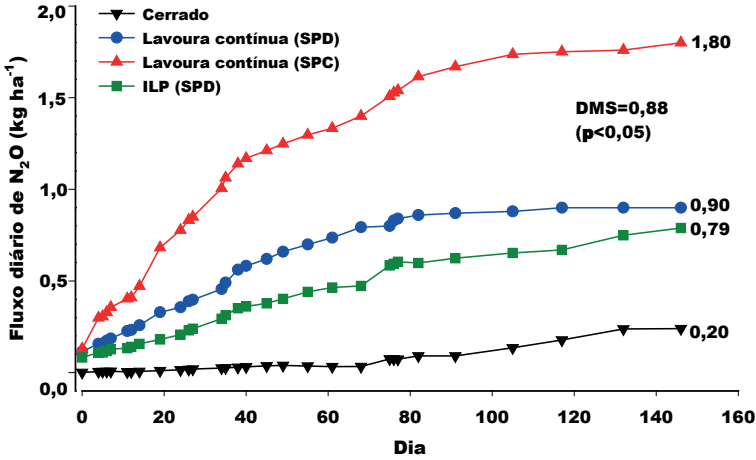


Figura 9. Fluxo diário de óxido nitroso quantificado durante o ciclo do sorgo safrinha em sucessão à soja em experimento de longa duração na Embrapa Cerrados, Planaltina-DF

Fonte: Sato et al., 2019.

$IQS_{\text{biológico}}$ (Índice de Qualidade Biológica do Solo), sendo as funções (2) e (3) utilizadas no cálculo do $IQS_{\text{químico}}$ (Índice de Qualidade Química do Solo). Por sua vez, estes dois índices são aplicados no cálculo do IQS_{FertBio} (Índice de Qualidade do Solo “FertBio”) que expressa a qualidade química e biológica do solo em um único índice (Mendes et al., 2021).

A BioAS permite que o agricultor monitore a saúde de seu solo, sabendo exatamente o que avaliar (enzimas arilsulfatase e β -glicosidase), como avaliar (solo coletado na profundidade de 0-10cm), quando avaliar (após a colheita das lavouras) e como interpretar o que foi avaliado (via valores de referência que permitem avaliar, para cada tipo de solo, se o nível de atividade enzimática está baixo, médio ou adequado). Em seu estágio atual, a tecnologia BioAS está formatada para atender áreas sob cultivos anuais de grãos no Cerrado, abrangendo uma área em torno de 35 milhões de hectares.

O uso da BioAS em escala comercial, a partir de julho de 2020 (<https://youtu.be/IBJYc30aFas>), é uma inovação pioneira no mundo, alinhada ao objetivo de viabilizar tecnologias que promovam a sustentabilidade das atividades agrícolas com o equilíbrio ambiental. Para isso a Embrapa está capacitando uma rede de laboratórios comerciais de análise de solo na realização das análises das enzimas arilsulfatase e β -glicosidase. Por meio de uma plataforma web, os resultados das análises são encaminhados para a Embrapa para a interpretação dos valores a partir de algoritmos desenvolvidos para diferentes tipos de solo. O laudo gerado é então repassado ao laboratório que o encaminha ao seu cliente.

O uso das duas enzimas como indicadores do funcionamento da maquinaria biológica do solo deve-se ao fato de que nem sempre as alterações nas propriedades químicas, em particular os teores de MOS, são capazes de identificar as modificações que ocorrem no solo em função da adoção de sistemas de manejo conservacionistas como o SPD, a ILP e a ILPF. Conforme evidenciado nos dados do experimento de RCS da Fundação MT, muitas vezes áreas com características químicas semelhantes possuem características biológicas completamente distintas (Mendes et al., 2018, 2019a).

Além da seleção dos bioindicadores mais adequados, um outro grande desafio que precisava ser transposto no uso desses atributos para avaliações de saúde de solo era a dificuldade de interpretação dos seus valores individuais. Diferentemente do que ocorre com os indicadores químicos de fertilidade, cujos níveis de suficiência (baixo, médio, adequado e alto) já estão relativamente bem definidos para cada nutriente e tipo de solo (sempre levando em consideração características como: textura, teor de MOS, etc.), até recentemente era difícil medir e interpretar os bioindicadores, independentemente de um controle ou referencial de comparação.

Visando auxiliar na interpretação individual dos bioindicadores, foi elaborada uma estratégia para interpretação desses atributos utilizando os princípios dos ensaios de calibração de nutrientes (Lopes et al., 2013, 2018; Mendes et al., 2019b). A proposta foi baseada nas relações dos bioindicadores com o rendimento relativo acumulado (RRA) de grãos de soja e milho e com os teores de MOS. Todos os atributos microbiológicos foram correlacionados positivamente com o RRA e com a MOS, o que possibilitou, por meio de análises de regressão, a delimitação de classes de suficiência para cada um, em função do RRA e da MOS, de acordo com os seguintes critérios: 40% do RRA: baixo; de 41% a 80% do RRA: moderado; e >80% do RRA: adequado.

De forma análoga às tabelas de teores de nutrientes no solo, além de estabelecer os valores de referência para os bioindicadores, o objetivo das tabelas de interpretação é o de fornecer informações sobre a eficácia dos sistemas de produção e/ou práticas de uso da terra e de seus impactos sobre a saúde do solo. Assim, a BioAS pode ser utilizada como suporte para tomadas de decisão sobre o manejo do solo na propriedade agrícola. Por exemplo, um valor de teste “baixo” para os bioindicadores pode ser uma indicação de que práticas de manejo inadequadas estejam sendo utilizadas. Para cada bioindicador os limites críticos também podem ser entendidos como os valores desejáveis que devem ser mantidos para o funcionamento normal do solo. Seguindo esse raciocínio, a BioAS pode ser utilizada como instrumento para alertar agricultores que utilizam sistemas de manejo que degradam o solo, despertando a vontade de mudar esse tipo de manejo por meio da adoção de práticas conservacionistas. Esse alerta é reforçado quando se demonstra que a negligência com a maquinaria biológica do solo, cedo ou tarde, resulta em expressivas perdas de produtividade. Da mesma forma, a BioAS serve como um incentivo e estímulo a agricultores que já adotam sistemas de manejo conservacionistas, já que muitas vezes os aumentos de matéria orgânica, principalmente nos solos tropicais argilosos, levam mais tempo para serem observados e, geralmente, não são muito expressivos.

As primeiras tabelas de interpretação dos bioindicadores (Lopes et al., 2013) foram desenvolvidas com amostras de solo coletadas na fase de florescimento das culturas (na metade no período chuvoso), mantidas na umidade natural do solo e rapidamente transportadas e processadas em laboratório. Porém, essa época coincide com um período de elevada demanda de trabalhos na lavoura e com a cultura estabelecida em máximo desenvolvimento, o que, na prática, dificultaria a coleta e o envio dessas amostras para o laboratório (Mendes et al., 2015). Para que o produtor pudesse unificar as amostragens para microbiologia e fertilidade e para que os laboratórios comerciais de análises de solo pudessem unificar os processos de preparação das amostras (secagem à temperatura ambiente e peneiramento), foi desenvolvido na Fase III do Projeto Bioindicadores, o conceito de amostra de solo FERTBIO, para

fertilidade química e biológica do solo (Mendes et al., 2019b). Esse conceito propõe a unificação da época de amostragem de solo para as análises químicas e biológicas (ambas realizadas na fase de pós-colheita) e dos procedimentos de pré-tratamento das amostras (com secagem do solo ao ar antes da realização das análises de laboratório).

Vantagens da utilização da arilsulfatase e da β -glicosidase

Em todos os experimentos/fazendas avaliados, as enzimas arilsulfatase e β -glicosidase, em conjunto ou separadamente, foram os indicadores que consistentemente apresentaram maior sensibilidade para detectar alterações no solo, em função do sistema de manejo (Mendes et al., 2019a). As atividades dessas duas enzimas possuem uma estreita relação com a MOS, atributo base da qualidade de um solo, e o rendimento de grãos, refletindo o aspecto econômico das lavouras, que é fundamental para a sustentabilidade do negócio agrícola (Lopes et al., 2013, 2018; Mendes et al., 2019a).

Outras características que tornaram vantajosa a utilização da arilsulfatase e da β -glicosidase são: precisão, coerência, sensibilidade, simples determinação analítica (com o uso de reagentes fora da lista de controle do Exército) e reprodutibilidade. Além disso, as duas enzimas são relacionadas à ciclagem da MOS, não são influenciadas pela aplicação de adubos e calcário e se adequam ao conceito FERTBIO de amostragem de solo (Mendes et al., 2019b). Essas enzimas também são correlacionadas com vários outros atributos microbiológicos (carbono da biomassa microbiana, respiração basal, fosfatase ácida, celulase, desidrogenase), o que permitiu a seleção de apenas dois indicadores para expressar o funcionamento da maquinaria biológica dos solos.

A título de comparação, o programa CASH de monitoramento da saúde de solo da Universidade de Cornell (EUA) selecionou três indicadores obrigatórios (proteínas do solo, respiração basal e carbono ativo) e dois optativos (nível de pressão de doenças nas raízes e nitrogênio potencialmente mineralizável) como indicadores biológicos para avaliar a saúde do solo, cujos níveis foram interpretados com base em distribuições estatísticas (Moebius-Clune et al., 2016). Na Holanda, foram utilizados 12 indicadores biológicos interpretados com base em valores obtidos em áreas de referência (Rutgers et al., 2012). Assim, verifica-se que uso da BioAS coloca o Brasil na vanguarda mundial desse assunto, ao possibilitar a inclusão de métricas, cuja interpretação foi definida com base no rendimento das lavouras e na MOS, para atestar que o crescimento agrícola com sustentabilidade é, de fato, uma grande oportunidade para o nosso país.

Conforme ilustrado na Figura 3, a atividade enzimática total de um solo é o somatório da atividade enzimática dos organismos vivos (plantas, microrganismos e animais) e das enzimas abiônicas (enzimas associadas à fração não viva, que se acumulam no solo, protegidas da ação de proteases, por meio de sua adsorção em partículas de argila e na matéria orgânica) (Wallenstein; Burns, 2011). Isso confere às determinações das atividades das enzimas arilsulfatase e β -glicosidase mais outras duas vantagens importantes: 1) elas são atributos integradores relacionados a todos os componentes biológicos do solo (plantas, animais e microrganismos) e, 2) por não estarem associadas somente ao componente vivo, podendo ser adsorvidas em partículas de argila e na matéria orgânica, funcionam como impressões digitais dos sistemas de manejo aos quais o solo foi submetido permitindo, dessa forma, acessar o que ilustrativamente definimos como “memória” do solo (Mendes et al., 2019a).

Em termos de adoção em rotina nos laboratórios comerciais, as determinações de atividade enzimática podem ser facilmente implementadas, pois baseiam-se em procedimentos analíticos simples e praticamente dispensam investimentos na compra de novos equipamentos (requerem incubadores com temperatura controlada e espectrofotômetros na faixa do visível, equipamentos comumente já encontrados nesses locais).

O laudo da BioAS: Uma visão do solo que vai além do excesso/falta de nutrientes

Ao agregar atributos capazes de detectar, com maior antecedência, alterações que ocorrem no solo em função do seu uso e manejo, a utilização da BioAS abre uma nova perspectiva para a utilização das análises de solo como suporte para tomadas de decisão de manejo nas áreas agrícolas.

Apesar do grande interesse no desempenho ambiental da agricultura, não existem metodologias amplamente aceitas de medição que possam ser usadas em escalas global, nacional, estadual e dentro da fazenda (“on farm”) para avaliar esse desempenho. Várias agências reguladoras internacionais têm discutido os atributos a serem utilizados nas avaliações de qualidade do solo. A título de exemplo, o comitê técnico internacional ISO 190, “Qualidade do Solo”, propôs uma lista de 35 atributos (17 químicos, 11 físicos e 7 biológicos) como potenciais indicadores de qualidade de solo; o EPA (US Environmental Protection Agency) propôs uma lista de 1800 atributos como indicadores de qualidade química do solo (Burns et al., 2006), enquanto que na OCDE (Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico) foram definidos 62 indicadores agroambientais (IAAs), abrangendo 11 grandes temas (Organisation..., 2013).

Como as condições de clima e ambiente, as particularidades agrícolas e as abordagens de pesquisa diferem entre os países, é pouco provável que exista em um futuro próximo uma solução única para mensurar os impactos ambientais da agricultura a nível mundial. Por essa razão, é fundamental que os formuladores de políticas públicas na área agroambiental do Brasil, por meio das instituições nacionais de pesquisa, tenham à sua disposição estudos consistentes, em nível de país, que permitam um profundo conhecimento e embasamento sobre o melhor conjunto mínimo de IAAs para nortear a atividade agropecuária brasileira, visando o alcance dos melhores resultados ambientais com melhor retorno econômico, possibilitando maior inserção da nossa agricultura na bioeconomia.

O cálculo do IQS_{FERTBIO} baseia-se no conceito proposto por Karlen e Stott (1994), atribuindo ao solo três funções, sendo elas (F1) a capacidade do solo de ciclar nutrientes; (F2) a capacidade do solo de armazenar nutrientes e (F3) a capacidade do solo de suprir nutrientes (Mendes et al., 2021). Assim como o IQS_{FERTBIO} , os índices das funções também variam de 0 a 1, sendo que quanto mais próximo de 1 melhor o desempenho da função (índices das funções F1, F2 e F3) ou a qualidade do solo (IQS_{FERTBIO}). A F1 objetiva estimar o desempenho da atividade biológica e dos processos derivados dela direta ou indiretamente, como a ciclagem de nutrientes e a formação e decomposição da MOS. A F2 objetiva quantificar o reservatório de nutrientes do solo, o qual está principalmente relacionado à textura, qualidade das argilas e ao conteúdo e qualidade da MOS. A F3 avalia a qualidade do conteúdo do reservatório de nutrientes do solo, envolvendo tanto aspectos relacionados à acidez, quanto à capacidade do solo de disponibilizar vários dos principais macronutrientes. O desempenho dessas três funções é mensurado pelos indicadores obtidos nas análises químicas e biológicas do solo os quais são individualmente interpretados por meio de algoritmos definidos conforme a textura do solo (Figura 10).

Todos esses cálculos são realizados por meio da utilização do Módulo Interpretação da Qualidade do Solo (MIQS) da tecnologia BioAS, desenvolvido pela Embrapa Cerrados e Embrapa Agrobiologia. A comparação do laudo da BioAs com o laudo atual das análises de solo é apresentada na Figura 11 e demonstra que atingimos uma forma mais abrangente de relacionamento com nossos solos, indo muito além das questões de deficiência/excesso de nutrientes.

Atualmente, em muitas fazendas do Cerrado, as decisões de manejo de solo são influenciadas por aspectos operacionais e econômicos em detrimento dos aspectos agrônômicos. Assim, a BioAS poderá se tornar um parâmetro para reforçar a importância da adoção de sistemas conservacionistas, melhoradores da qualidade de solo. Ao fornecer informações que normalmente passam despercebidas nas análises de química de solo, a BioAS antecipa fenômenos que podem impactar negativamente o desempenho econômico das lavouras, levando o tomador de decisão da propriedade rural a, pelo menos, refletir sobre o assunto. A presença de indicadores relacionados ao funcionamento da maquinaria biológica do solo nas análises comerciais de rotina, representa um desafio para os agrônomos e técnicos do setor rural, pois, exigirá, muitas vezes, uma reavaliação das práticas de manejo adotadas na propriedade agrícola e soluções customizadas, específicas para cada fazenda.

Semelhante a um exame de sangue, no qual, por meio da determinação de vários indicadores, podemos avaliar como está nosso estado de saúde, a BioAS serve para avaliar a saúde do solo. No exame de sangue, podemos detectar problemas assintomáticos de saúde em seres humanos, por exemplo, taxas elevadas de colesterol. De forma análoga, a BioAS detecta problemas assintomáticos de saúde de solo,

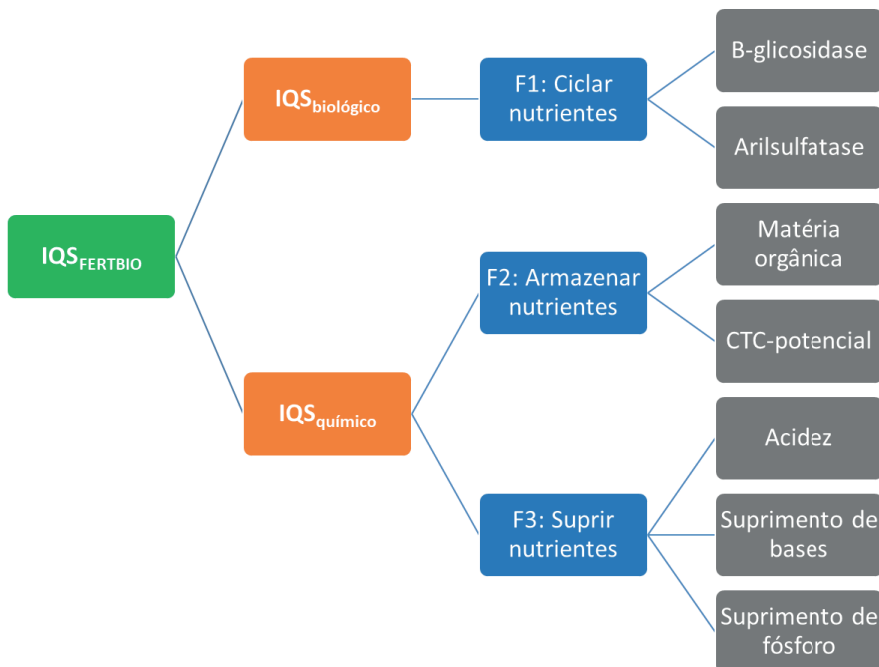


Figura 10. Representação esquemática do modelo utilizado para o cálculo do $IQS_{FERTBIO}$.

Análise de química de solo										
Amostras	pH em água	Al	Ca	H+Al	Mg	CTC	SB	P (Mehlich1)	K	V%
	pH			me/100cc				mg/l		
1001 LV01	5.5	0.05	3.1	5.3	1.3	10	5	17	96	46
1002 09	5.6	0.01	7.7	2.6	4.0	15	12	39	114	82
1003 02/19 BC	5.1	0.08	2.8	5.6	0.9	9	4	14	55	40
1004 12	5.7	0.03	6.6	5.2	1.8	14	9	27	75	62
1005 20	6.2	0.02	5.9	4.0	0.9	11	7	10	92	64
LV 101	5.6	0.01	5.5	5.3	1.1	12	7	35	36	56
LV 102	5.7	0.02	4.0	5.1	1.1	10	5	18	54	51
LV 103	6.1	0.01	3.7	3.9	2.2	10	6	13	39	60
LV 104	5.5	0.02	2.1	3.5	0.6	6	3	22	35	44
LV 105	5.9	0.02	5.3	4.1	0.8	10	6	17	61	60

Laudo da BioAS										
AMOSTRA	ARIL	BETA	MOS	IQS FERTBIO	IQS Biológico	IQS Químico	CICLAGEM Nutrientes	ARMAZ. Nutrientes	SUPRIMENTO Nutrientes	
1001 LV01	161	165	34	0.73	0.70	0.75	0.70	0.59	0.91	
1002 09	219	151	45	0.72	0.71	0.72	0.71	0.61	0.83	
1003 02 19 BC	78	96	32	0.82	0.61	0.93	0.61	0.88	0.97	
1004 12	319	196	44	0.89	0.83	0.92	0.83	0.86	0.99	
1005 20	71	60	34	0.79	0.51	0.93	0.51	0.88	0.98	
LV 101	68	87	39	0.67	0.36	0.82	0.36	0.70	0.94	
LV 102	73	94	35	0.63	0.39	0.76	0.39	0.58	0.93	
LV 103	77	69	33	0.64	0.40	0.76	0.40	0.58	0.95	
LV 104	23	45	19	0.54	0.42	0.61	0.42	0.35	0.86	
LV 105	56	72	33	0.62	0.34	0.76	0.34	0.58	0.95	

Figura 11. Laudo tradicional de análise de química de solo de vários talhões de uma fazenda no MT (A) e laudo da BioAS dos mesmos locais gerado pela plataforma Módulo de Interpretação da Qualidade do Solo MIQS (B). No laudo da BioAS, os índices também são representados em um padrão cromático “semáforico”, onde verde escuro ou verde claro significam valores adequados, amarelo, valores intermediários e laranja ou vermelho, valores inadequados.

antes que estes se revertam em perdas de produtividade nas lavouras. Assim, a BioAS serve para alertar sobre a necessidade da mudança de postura em relação ao manejo do solo, a famosa “vontade de mudar”. No caso de seres humanos com alterações em seu exame de sangue, essa mudança de postura vai desde o uso de medicamentos até a implementação de um programa de atividade físicas e de reavaliação de hábitos alimentares. No caso do solo, a adoção de sistemas de manejo e práticas agrícolas como o plantio

direto (sem revolvimento do solo), a rotação de culturas, o uso de plantas de cobertura e a ILP, são o caminho natural para a obtenção de solos saudáveis, i.e., biologicamente mais ativos e produtivos. Nossa expectativa é de que a BioAS auxiliará bastante nesse processo de mudança de postura.

Considerações Finais

A presença de um capítulo sobre saúde do solo e tecnologia BioAS em um livro sobre Bioinsumos, não se deve ao acaso. A transformação dos solos onde cultivamos nossas lavouras em verdadeiras “biofábricas naturais”, ativas e produtivas, passa obrigatoriamente pela utilização de sistemas de manejo que favoreçam a saúde do solo, tais como o sistema plantio direto (SPD), a rotação de culturas, o uso de culturas de cobertura e a integração lavoura-pecuária.

A percepção dos efeitos benéficos e o interesse na avaliação de aspectos relacionados à saúde do solo são crescentes entre agricultores e tomadores de decisão no meio rural, principalmente a medida em que a vulnerabilidade dos sistemas de produção intensivos e de grande escala aumentam em função da baixa adoção da rotação de culturas.

O lançamento da tecnologia Embrapa BioAS ocorreu em julho de 2020 e inaugura, nas áreas sob cultivos anuais do Cerrado, onde o carro chefe é a cultura da soja, uma forma mais abrangente de avaliação da qualidade e saúde dos solos, indo além de questões relacionadas apenas à deficiência/excesso de nutrientes.

Ao possibilitar a avaliação da saúde do solo, a tecnologia BioAS fornece subsídios para tomadas de decisão sobre manejo. Além disso, a BioAS também poderá auxiliar na avaliação/monitoramento dos efeitos de bioinsumos, quando utilizados como condicionadores de solo e auxiliar na escolha das áreas com maior potencial de resposta a esses produtos. Em tese, solos com a saúde comprometida tendem a ser mais responsivos do que solos saudáveis.

Ao investir em saúde do solo, independentemente da questão de agregação de valor aos produtos agrícolas ou à sua propriedade, o agricultor já sai ganhando, pois, solos saudáveis além de produtivos, são biologicamente ativos e resilientes, com melhor eficiência no uso de nutrientes, maior capacidade para armazenamento de água e biorremediação de pesticidas. Tudo isso resulta em maior lucratividade, tanto sob o ponto de vista de aspectos econômicos, quanto ambientais.

Para disponibilizar a BioAS para os produtores brasileiros a Embrapa tem atuado na capacitação de laboratórios comerciais de análises de solo (Rede Embrapa de BioAS), que estão conectados aos laboratórios de pesquisa por meio da plataforma MIQS (que além de fazer a interpretação dos resultados das análises enzimáticas, também calcula os índices de qualidade de solo (IQS) com bases nas propriedades químicas e biológicas).

A utilização da BioAS como parte das rotinas de análise de solo, favorecerá a inserção do país na bioeconomia. Isso pode ocorrer por meio do incentivo a utilização de sistemas de manejo conservacionistas (que otimizam o uso dos insumos e dos fatores de produção) e do fornecimento de métricas para atestar o crescimento agrícola com sustentabilidade em um processo em que todos saem ganhando: o agricultor, o país, a sociedade e o meio-ambiente.

Referências

- BANDICK, A. K.; DICK, R. P. Field management effects on soil enzyme activities. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 31, p. 1471-1479, 1999. DOI: 10.1016/S0038-0717(99)00051-6.
- DICK, R. P.; BURNS, R. G. A brief history of soil enzyme research. In: DICK, R. P. (Ed.). **Methods of soil enzymology**. Madison: Soil Science Society of America, 2011. p. 1-19. DOI: 10.2136/sssabookser9.c1
- DORAN, J. W.; PARKIN, T. B. Defining and assessing soil quality. In: DORAN, J. W.; COLEMAN, D. C.; BEZDICEK, D. F.; STEWART, B. A. (Ed.). **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: Soil Science Society of America, 1994. p. 107-124. Special Publication n. 35
- DRINKWATER, L. E.; SNAPP, S. S. Nutrients in agroecosystems: re-thinking the management paradigm. *Advances in Agronomy*, v. 92, p. 163-186, 2007. DOI: 10.1016/S0065-2113(04)92003-2.
- GANS, J.; WOJLINSKY, M.; DUNBAR, J. Computational improvements reveal great bacterial diversity and high metal toxicity in soil. *Science*, v. 309, p. 1387-1390, 2005.
- GIANFREDA, L.; BOLLAG, J. M. Isolated enzymes for the transformation and detoxification of organic pollutants. In: BURNS, R. G.; DICK, R. P. (Eds.) **Enzymes in the environment: Activity, ecology, and applications**. New York: Marcel Dekker, 2002. p. 495-538.
- HATFIELD, J. L.; SAUER, T. J.; CRUSE, R. M. Soil: the forgotten piece of the water, food, energy nexus. *Advances in Agronomy*, v. 143, p. 1-46, 2017. DOI: 10.1016/bs.agron.2017.02.001.
- KARLEN, D. L.; STOTT, D. E. A framework for evaluating physical and chemical indicators of soil quality. In: DORAN, J. W.; COLEMAN, D. C.; BEZDICEK, D. R.; STEWART, B. A. (Eds.). **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: Soil Science Society of America, 1994. p. 53-72. (Special Publication, 35). DOI: 10.2136/sssaspecpub35.c4.
- LARKIN, R. P. Soil health paradigms and implications for disease management. *Annual Review of Phytopathology*, v. 53, p. 199-221, 2015.
- LOPES, A. A. C.; SOUSA, D. M. G.; CHAER, G. M.; REIS JUNIOR, F. B.; GOEDERT, W. J.; MENDES, I. C. Interpretation of microbial soil indicators as a function of crop yield and organic carbon. *Soil Science Society of America*, v. 77, p. 461-472, 2013.
- LOPES, A. A. C.; SOUSA, D. M. G.; REIS JUNIOR, F. B.; FIGUEIREDO, C. C.; MALAQUIAS, J. V.; SOUZA, L. M.; MENDES, I. C. Temporal variation and critical limits of microbial indicators in oxisols in the Cerrado, Brazil. *Geoderma Regional*, v. 12, p. 72-82, 2018.
- MENDES, I. C.; SOUSA, D. M. G.; DANTAS, O. D.; LOPES, A. A. de C.; REIS JUNIOR, F. B.; OLIVEIRA, M. I. L.; CHAER, G. M. Soil quality and grain yield: a win-win combination in clayey tropical Oxisols. *Geoderma*, v. 388, 114880, 2021.
- MENDES, I. C.; SOUSA, D. M. G.; REIS JUNIOR, F. B. Bioindicadores de qualidade de solo: dos laboratórios de pesquisa para o campo. *Cadernos de Ciência e Tecnologia*, v. 32, p. 191-209, 2015.
- MENDES, I. C.; SOUSA, D. M. G.; REIS JUNIOR, F. B.; LOPES, A. A. C. Indicadores de qualidade biológica para manejo sustentável de solos arenosos. *Boletim Informativo da Sociedade Brasileira de Ciências do Solo*, v. 44, p. 20-25, 2018.
- MENDES, I. C.; SOUSA, D. M. G.; REIS JUNIOR, F. B.; KAPPES, C.; ONO, F. B.; SEMLER, T. D.; ZANCANARO, L.; LOPES, A. A. C. Qualidade biológica do solo: por que e como avaliar. *Boletim de Pesquisa da Fundação MT*, v. 1, p. 98-105, 2017.
- MENDES, I. C.; SOUSA, D. M. G.; REIS JUNIOR, F. B.; LOPES, A. A. C.; SOUZA, L. M. Bioanálise de solo: aspectos teóricos e práticos. *Tópicos em Ciência do Solo*, v. 10, p. 399-462, 2019a.
- MENDES, I. C.; SOUSA, D. M. G.; REIS JUNIOR, F. B.; LOPES, A. A. C. **Bioanálise de solo: como acessar e interpretar a saúde do solo**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2018. 24p. (Embrapa Cerrados. Circular técnica, 38).
- MENDES, I. C.; SOUZA, L. M.; SOUSA, D. M. G.; LOPES, A. A. C.; REIS JUNIOR, F. B.; LACERDA, M. P. C.; MALAQUIAS, J. V. Critical limits for microbial indicators in tropical Oxisols at post-harvest: The FERTBIO soil sample concept. *Applied Soil Ecology*, v. 139, p. 85-93, 2019b. DOI: 10.1016/j.apsoil.2019.02.025.
- MENDES, I. C.; ONO, F. B.; OLIVEIRA, M. I.; SILVA, R. G.; KAPPES, C.; REIS JUNIOR, F. B.; ZANCANARO, L. Rotação de culturas, bioindicadores e saúde do solo. In: SILVA, P. A.; OLIVEIRA, L. C. (Org.). **Rotação de Culturas, bioindicadores e saúde do solo**. 19. ed. Rondonópolis: Fundação MT, 2020. v. 19, p. 102-110.
- MOEBIUS-CLUNE, B. N.; MOEBIUS-CLUNE, D. J.; GUGINO, B. K.; IDOWU, O. J.; SCHINDELBECK, R. R.; RISTOW, A. J.; Van ES, H. M.; THIES, J. E.; SHAYLER, H. A.; MCBRIDE, M. B.; KURTZ, K. S. M.; WOLFE, D. W.; ABAWI, G. S. **Comprehensive assessment of soil health: The Cornell Framework**. 3rd ed. Geneva: Cornell University, 2016.
- NICOLODI, M.; GIANELLO, C.; ANGHINONI, I.; MARRÉ, J.; MIELNICZUK, J. Insuficiência do conceito mineralista para expressar a fertilidade do solo percebida pelas plantas cultivadas no sistema plantio direto. *Revista Brasileira Ciência Solo*, v. 32, p. 2735-2741, 2008. DOI: 10.1590/S0100-

06832008000700017

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. *OECD Compendium on Agri-Environmental Indicators*. Paris: OECD, 2013. DOI: 10.1787/9789264186217-en 2013.

PORTILHO, I. I. R.; SCORZA JÚNIOR, R. P.; SALTON, J. C.; MENDES, I. M.; MERCANTE, F. M. Persistência de inseticidas e parâmetros microbiológicos em solo sob sistemas de manejo. *Ciência Rural*, v. 45, p. 22-28, 2015.

RUTGERS, M.; VAN WIJNEN, H. J.; SCHOUTEN, A. J.; MULDER, C.; KUITEN, A. M. P.; BRUSSAARD, L.; BREURE, A. M. A method to assess ecosystem services developed from soil attributes with stakeholders and data of four arable farms. *Science of the Total Environment*, v. 415, p. 39-48, 2012.

SATO, J. H.; FIGUEIREDO, C. C.; MARCHÃO, R. L.; OLIVEIRA A.D.; VILELA L.; DELVICO F.M.; ALVES, B.J.R.; CARVALHO, A.M. Understanding the relations between soil organic matter fractions and N₂O emissions in a long- term integrated crop-livestock system. *European Journal of Soil Science*, v. 70, p.1183-1196, 2019.

SCHLOSS, P. D.; HANDELSMAN, J. Towards a census of bacteria in soil. *PLoS Comput Biol*, v. 2, p. 786-793, 2006.

VUKICEVICH, E.; LOWERY, T.; BOWEN, P.; ÚRBEZ-TORRES, J. R.; HART, M. Cover crops to increase soil microbial diversity and mitigate decline in perennial agriculture: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, v. 36, n. 3, p. 36-48, 2016.

WALLENSTEIN, M. D.; BURNS, R. G. Ecology of extracellular enzyme activities and organic matter degradation in soil: a complex community-driven process. In: DICK, R. P. (Ed.). *Methods of soil enzymology*. Madison: Soil Science Society of America, 2011. p. 35-56. DOI: 10.2136/sssabookser9.c2.

Técnicas avançadas de biologia molecular no microbioma da soja

Caroline Sayuri Nishisaka

Helio Danilo Quevedo

Rodrigo Mendes

Introdução

O solo é um dos ecossistemas mais complexos do planeta e hospeda uma imensa diversidade de microrganismos sendo um importante repositório genético que abrange diversas vias metabólicas (Naylor et al., 2020). Apenas um grama de solo pode conter entre 10^7 e 10^9 células microbianas ativas (Andreote; Cardoso, 2016). Grande parte destes microrganismos apresenta papel fundamental no desenvolvimento vegetal, promovendo a ciclagem e disponibilidade de nutrientes, contribuindo com a proteção da planta contra patógenos e pestes, além de mitigar efeitos de estresses abióticos (Mendes et al., 2013; Mendes; Raaijmakers, 2015). Estes processos em interação com a planta ocorrem, principalmente, na região do solo próxima ao sistema radicular, i.e., rizosfera (Hiltner, 1904). A região rizosférica é considerada um *hotspot* devido ao alto teor de nutrientes exsudados pela planta, por apresentar alta atividade e diversidade microbiológica, incluindo bactérias, fungos, oomicetos e vírus (Mendes; Raaijmakers, 2015; Berg et al., 2020). Membros do microbioma da rizosfera podem ser recuperados, por meio de isolamento em meio de cultivo, e então testados, na forma de inoculantes, quanto aos seus efeitos benéficos no desenvolvimento da planta. Por exemplo, bactérias apresentando potencial para a promoção de crescimento da soja já foram isoladas e caracterizadas quanto sua capacidade de produzir ácido indolacético, solubilizar fosfato mineral e fixar nitrogênio (Kuklinsky-Sobral et al., 2005). Utilizando técnicas tradicionais de cultivo, este estudo descreveu bactérias pertencentes aos gêneros *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Enterobacter*, *Pantoea* e *Acinetobacter* como isolados promotores de crescimento da soja (Kuklinsky-Sobral et al., 2005). Porém, o emprego de tecnologias moleculares no estudo de microbiomas, em especial o sequenciamento em larga escala, tem ampliado a capacidade de acessar a diversidade microbiana da soja. O uso de técnicas independentes de cultivo microbiano em meio de cultura, de forma geral chamada de abordagem metagenômica, tem revolucionado a forma que estudamos interações entre comunidades microbianas e plantas. Assim, neste capítulo, discutimos importantes aspectos da ecologia do microbioma da soja, o impacto da domesticação e melhoramento genético na interação entre microrganismos e a planta hospedeira e,

finalmente, discutimos como o manejo do sistema de produção pode favorecer a exploração das funções benéficas providas pelo microbioma.

O microbioma do solo e da rizosfera

O termo microbioma foi inicialmente aplicado à ecologia microbiana do corpo humano, o qual define o conjunto dos representantes microbiológicos e suas respectivas funções metabólicas envolvidas na interação microrganismos-hospedeiro (Berg et al., 2020). Os microrganismos membros do microbioma ocupam nichos especializados, desempenham funções específicas, interagem com outros membros do microbioma e com o ambiente, e compartilham os benefícios destas interações (Mendes et al., 2013; Mendes; Raaijmakers, 2015; Andreote; Cardoso, 2016). A formação do microbioma garante ao hospedeiro vantagens adaptativas, estando relacionado com as habilidades de auxiliar na nutrição do hospedeiro, proteger contra desenvolvimento de doenças e minimizam os estresses bióticos e abióticos (Mendes et al., 2013; Mendes; Raaijmakers, 2015).

O agrônomo alemão e fisiologista de plantas Lorenz Hiltner foi o primeiro autor a utilizar o termo “rizosfera” para caracterizar a região do solo ocupada por microrganismos em torno das raízes das plantas (Hiltner, 1904). Inicialmente, utilizando como modelo a associação de bactérias diazotróficas, a rizosfera foi classificada como sendo a região do solo influenciada pelas raízes das plantas que facilitavam a absorção de nitrogênio (Hartmann et al., 2008; Lettice, 2019). Posteriormente, foi possível observar que, além dos benefícios gerados ao hospedeiro, a região rizosférica também possuía propriedades físico-químicas e microbiológicas influenciadas pelos exsudatos liberados pelas plantas (Mendes; Raaijmakers, 2015). Dessa forma, estudos recentes têm revelado como as plantas governam e modulam, estruturalmente e funcionalmente, os organismos do solo na montagem do microbioma da rizosfera abrangendo vários níveis tróficos (Mendes et al., 2013; Rossmann et al., 2020). Modelos ecológicos da formação do microbioma gerenciando níveis tróficos podem ser observados em Sapp et al. (2018) e Rossmann et al. (2020), os quais corroboram com a hipótese de que a estruturação das comunidades microbiológicas, e de outros organismos do solo correlacionados, podem ser dependentes do genótipo do hospedeiro.

Os microrganismos são a base da vida no solo e prestam diversos serviços ecossistêmicos, incluindo a mobilização de matéria orgânica e a ciclagem de nutrientes (Andreote; Cardoso, 2016; Rossmann et al., 2020). Devido à alta diversidade microbiana no solo, os serviços exercidos por esses microrganismos ocorrem de forma simultânea, gerando ecossistemas multifuncionais e complexos (Jing et al., 2015; Meyer et al., 2018; Jiao et al., 2019). Apesar das funções do solo estarem relacionadas com as atividades microbiológicas, muitas porções do solo podem ser consideradas desertos nutricionais, ou seja, sem atividade biótica, apresentando microrganismos mortos ou dormentes (Moreira; Siqueira, 2006). Isso ocorre porque a microbiota do solo é carente de moléculas energéticas, assim, a atividade microbiana e a colonização de microrganismos acontecem em torno de fontes de carbono orgânico, como a matéria orgânica e de exsudatos liberados pelas raízes de plantas (Andreote; Cardoso, 2016). Tais ecossistemas são chamados microbiomas, os quais gerenciam diversas funções em nichos ecológicos.

Dessa forma, o entendimento da estruturação do microbioma no solo e na rizosfera é fundamental para explorar os benefícios do microbioma a favor do desenvolvimento das plantas bem como o uso de inoculantes em sistemas de produção (Schmidt et al., 2019).

Ecologia do microbioma da soja

A diversidade microbiana epifítica e endofítica presente em nichos como a rizosfera, endosfera e filosfera das plantas, possui papel essencial no desenvolvimento do hospedeiro (Mendes; Raaijmakers, 2015; Kafle et al., 2018). Kuklinsky-Sobral et al. (2005) citam que algumas espécies microbianas de soja podem desenvolver características epifíticas ou endofíticas, oscilando entre esses dois nichos. Estas relações, entre os microrganismos e a planta hospedeira, podem ter características benéficas, neutras ou maléficas, dependendo da natureza microbiana (Mendes et al., 2013; Kafle et al., 2018). Um exemplo de relação benéfica é a simbiose ocorrida em rizóbios fixadores de nitrogênio e a soja, na qual ambos os organismos se beneficiam diretamente desta associação (Kafle et al., 2018). O processo de nodulação ocasionado por este complexo rizóbios-soja já é bem estudado e entendido pela comunidade científica (Delves et al., 1986; Wang et al., 2012), porém, os efeitos desta relação nos demais microrganismos da rizosfera ainda é pouco conhecido. Han et al. (2020), por exemplo, evidenciaram que o microbioma da rizosfera da soja possui influência direta na interação entre rizóbio-hospedeiro, auxiliando no estabelecimento e eficiência da simbiose e, também, no desenvolvimento dos nódulos.

Visto que os microrganismos da rizosfera, em sua maior parte, provêm do microbioma residente do solo e que o principal fator modulador dessa montagem é o genótipo do hospedeiro, pode-se afirmar que plantas de soja possuem a plena capacidade genética para estimular os microrganismos responsáveis pelo aprimoramento da sua relação simbiótica com rizóbios (Mendes et al., 2013; Sugiyama et al., 2015; Liu et al., 2019a; Zhong et al., 2019). Como exemplo, bactérias do gênero *Bacillus*, principalmente do grupo *B. cereus*, afetam a nodulação em soja promovendo o crescimento de *Sinorhizobium* e inibindo o crescimento de *Bradyrhizobium*, além de, possivelmente, afetar a distribuição destes rizóbios no solo (Han et al., 2020). Além dos rizóbios residentes, a inoculação de fixadores de nitrogênio em soja também proporciona o aumento de comunidades microbianas benéficas na região rizosférica, a qual ocorre de forma indireta, resultante dos efeitos da inoculação (Zhong et al., 2019).

Dentre os filos bacterianos que ocorrem em abundância em cultivares de soja, destaca-se o filo *Actinobacteria*, o qual é abundante em diversos ecossistemas terrestres e são conhecidos por produzir uma variedade de antibióticos (Barka et al., 2016; Tian et al., 2020). Ademais, filos como *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Chloroflexi*, *Gemmatimonadates* e *Bacteroidetes* também estão diretamente associados a rizosfera de cultivares de soja (Zhong et al., 2019; Tian et al., 2020). Da mesma maneira, fungos também são abundantes na região rizosférica de cultivares de soja, incluindo *Ascomycota*, *Zygomycota* e *Basidiomycota* (Li et al., 2010; Tian et al., 2020), sendo o filo *Ascomycota* o mais estudado (Shen et al., 2020). O gênero *Penicillium* é conhecido por ter um vasto número de espécies inibidoras do crescimento de agentes patogênicos, agindo, assim, no controle de doenças de plantas (Van Wees et al., 2008; Liu et al., 2019b).

Além do genótipo, outro aspecto que influencia a composição do microbioma da rizosfera é o estágio de crescimento da planta (Qiao et al., 2017). Sohn et al. (2021) mostraram diferenças na composição das comunidades microbianas da rizosfera e do nódulo de soja ao decorrer do crescimento da planta e de sua variedade. Neste estudo foi observado que, na rizosfera, há enriquecimento de bactérias promotoras de crescimento específicas em cada estágio de desenvolvimento da soja como, por exemplo, enriquecimento de *Flavobacterium* (Bacteroidetes) e *Pseudomonas* (Gammaproteobacteria), respectivamente, produtoras de ácido indolacético (AIA) e sideróforos (Soltani et al., 2010; Sohn et al., 2021). Além disso, ocorre o aumento na abundância de bactérias do gênero *Bradyrhizobium* sp. na rizosfera da soja, do estágio vegetativo até o reprodutivo, de acordo com a necessidade de fixação de nitrogênio pela planta (Sohn et al., 2021). Previamente, Sugiyama et al. (2015) também citaram que a variação na abundância de comunidades microbianas específicas na rizosfera da soja ocorre de acordo com o estágio de crescimento da planta, enfatizando que essas alterações acontecem potencialmente conforme as necessidades nutricionais do vegetal.

Os estudos de microbioma, em geral, utilizam diversas abordagens independentes de cultivo para a análise de comunidades microbianas. Dentre essas, tem-se ferramentas mais simples como a reação em cadeia da polimerase (PCR) e sua versão em tempo real (qPCR), bem como métodos mais robustos, os quais incluem análises metataxômicas, metagenômicas, metatranscriptômicas e metabolômicas (Jansson et al., 2012; Fierer, 2017). Han et al. (2020), por exemplo, utilizaram a técnica de qPCR para a quantificação de dois tipos de rizóbios em amostras de DNA extraídas do nódulo da soja. A quantificação de bactérias pode ser feita por meio do sequenciamento dos genes ribossomais 16S rRNA e 18S rRNA e a quantificação de fungos pode ser feita com o sequenciamento do ITS (*Internal Transcribed Spacer*). Ademais, estes mesmos genes podem ser aplicados, também, em técnicas de sequenciamento de *amplicons*, chamada de metataxonômica, permitindo a identificação e quantificação de diferentes espécies microbianas em uma dada amostra ambiental (Pascale et al., 2020). Por outro lado, utilizando abordagens de amplo espectro como as metodologias usando sequenciamento de DNA, RNA ou transcritos microbianos (totais), as chamadas técnicas “ômicas”, há a possibilidade de se elucidar os mecanismos utilizados nos processos metabólicos de organismos, bem como as interações entre duas ou mais espécies em um mesmo ecossistema (Jansson et al., 2012; Nannipieri et al., 2019; Pascale et al., 2020). Estudos que usam a abordagem metagenômica têm elucidado a importância e o papel do microbioma na interação com a soja e em sistemas de produção os quais estão apresentados na Tabela 1.

A ampla aplicação de técnicas moleculares avançadas possibilita o melhor entendimento de como o perfil microbiano rizosférico pode ser alterado frente as mudanças genéticas de seu hospedeiro e distúrbios bióticos e abióticos. Sendo assim, mudanças no genótipo da soja, sejam elas naturais ou antrópicas, podem afetar diretamente o desenvolvimento da planta, uma vez que o microbioma contribui diretamente com o sistema imune e nutricional vegetal.

Tabela 1. Estudos relacionados à caracterização da estrutura e funcionamento do microbioma da soja.

Objetivo	Método de acesso ao microbioma	Análise	Referência
Compreender o impacto do tipo de manejo no microbioma da soja	Sequenciamento do gene 16S rRNA e ITS	Abundância relativa e α -diversidade	Longley et al., 2020
Investigar o impacto do herbicida glifosato no microbioma endofítico e epifítico da soja	Sequenciamento do gene 16S rRNA e <i>fingerprint</i> por DGGE	<i>Fingerprinting</i> da abundância relativa	Kuklinsky-Sobral et al., 2005
Identificar padrões microbianos sucessionais de diferenciação de nichos em todos os compartimentos da soja ao longo de eixos temporais e espaciais	Sequenciamento dos genes 16S rRNA e ITS	α -diversidade, PCoA, abundância relativa e análise <i>random forest</i>	Moroenyane et al., 2021a
Discernir padrões sucessionais de nichos microbiológicos ao longo do desenvolvimento da soja	Sequenciamento do gene 16S rRNA e ITS	Abundância relativa, α e β -diversidade	Moroenyane et al., 2021b
Investigar o padrão de montagem do microbioma dos nódulos da soja em diferentes estágios de desenvolvimento da planta	Sequenciamento da região V3-V5 do gene 16S rRNA	Abundância relativa e filogenia	Mayhood; Mirza et al., 2021
Investigar a montagem do microbioma da soja em diferentes genótipos	Sequenciamento do gene 16S rRNA	Abundância relativa, dendrograma filogenético, α e β -diversidade, <i>network</i> e perfil metabolômico	Liu et al., 2019a
Comparar mudanças nas comunidades fúngicas em diferentes sistemas de plantio de soja a longo-termo	Sequenciamento e análise de qPCR do gene ITS	Abundância total e relativa, PCoA, cladograma taxonômico, α -diversidade	Liu et al., 2019b
Investigar a composição da microbiota do nódulo da soja em diferentes tipos de solo	Sequenciamento do gene 16S rRNA	Abundância relativa, dendrograma filogenético, α e β -diversidade, e <i>network</i>	Han et al., 2020
Caracterizar as diferenças entre os microbiomas da soja domesticada e da soja silvestre sob monocultivo	Sequenciamento da região V3-V4 do gene 16S rRNA e ITS no espaçamento ITS1	Abundância relativa, α e β -diversidade	Tian et al., 2020
Caracterizar a diversidade de comunidades fúngicas em soja domesticada e silvestre sob cultivo em diferentes tipos de solos	Sequenciamento de ITS no espaçamento ITS1	Abundância relativa e α -diversidade	Chang et al., 2020
Caracterizar a diversidade de comunidades bacterianas em soja domesticada e silvestre sob cultivo em diferentes tipos de solos	Sequenciamento da região V3-V4 do gene 16S rRNA	Abundância relativa e α -diversidade	Chang et al., 2019
Investigar as mudanças na composição da comunidade bacteriana do solo em resposta a elevação da concentração de CO ₂ e O ₃ (equivalente) na endosfera e rizosfera nas plantações de soja e milho	Sequenciamento da região V4 do gene 16S rRNA	α e β -diversidade	Wang et al., 2017
Caracterizar as mudanças em <i>Bradyrhizobium</i> durante o cultivo da soja	Pirosequenciamento	Abundância relativa de OTUs	Suijyama et al., 2015
Monitorar as mudanças do microbioma do solo ao decorrer da rotação das culturas de milho-soja seguido de culturas variadas	Sequenciamento da região V4 do gene 16S rRNA e ITS no espaçamento ITS2	Abundância relativa, padrão de distribuição das comunidades de bactérias e fungos via análise de inferência	Benitez et al., 2021

continua...

Tabela 1. Continuação

Objetivo	Método de acesso ao microbioma	Análise	Referência
Analisar os indicadores de saúde do solo e rendimento do grão ao longo dos estágios de rotações de culturas de milho-soja	Sequenciamento da região V3-V4 do gene 16S rRNA e ITS no espaçamento ITS1	Abundância relativa, α e β -diversidade	Neupane et al., 2021
Determinar se as estrigolactonas influenciam o recrutamento de microrganismos na rizosfera	Quantificação do nível de expressão gênica, qPCR	Expressão relativa de gene (Δ^{CT}), abundância relativa, β -diversidade, e perfil metabólico	Liu et al., 2020c.
Investigar o perfil taxonômico e funcional da filosfera de soja modificada (genótipo tolerante à seca) e convencional (BR 16)	Sequenciamento da região V3-V4 do gene 16S rRNA	Distribuição relativa, riqueza, diversidade e estimativas de predições funcionais	Montanari-Coelho et al., 2018.
Investigar a estrutura e composição das comunidades de rizobactérias em genótipos de alta e baixa nodulação	Sequenciamento da região V4 do gene 16S rRNA	Abundância relativa de OTUs, riqueza, β -diversidade e network	Zhong et al., 2019.
Determinar os efeitos dos fenótipos de nodulação nas comunidades bacterianas na rizosfera da soja de diferentes genótipos sob oferta de N-[CO(NH ₂) ₂] (ureia)	Sequenciamento da região V4-V5 do gene 16S rRNA	Dendrograma de similaridade, α e β -diversidade	Wang et al., 2020
Investigar padrões e funções microbianas no solo e na rizosfera da soja em uma conversão de floresta para agricultura	Sequenciamento de metagenoma	Abundância relativa, estimativas de predições funcionais, β -diversidade e network	Goss-Souza et al., 2019
Avaliar os processos ecológicos que regem a montagem microbiana na rizosfera de soja após conversão do uso do solo	Sequenciamento de metagenoma	Distribuição relativa, estimativas de predições funcionais, β -diversidade e modelagem ecológica	Goss-Souza et al., 2020

Impacto da domesticação e melhoramento genético das plantas na interação com o microbioma

Estudos relacionados a domesticação de plantas possuem grande importância científica e evolutiva gerando dados ainda mais acurados devido ao recente progresso na biologia molecular (Sediv et al., 2017). Dessa forma, é possível a identificação das diferenças genéticas entre cultivares selvagens e modernos, e dos efeitos causados por estas mudanças no microbioma associado ao hospedeiro (Liu et al., 2020b; Porter; Sachs, 2020). Considerando a soja e sua formação de nódulos radiculares, os efeitos da domesticação da cultura influem diretamente no processo de simbiose entre a planta e os microrganismos responsáveis pela fixação de nitrogênio (Liu et al., 2020b). Younginger e Friesen (2019) hipotetizaram que os cultivares selvagens de soja podem ter evolutivamente desenvolvido mecanismos de sinalização para recrutar rizóbios com melhor capacidade de fixação de nitrogênio, bem como maior aptidão dentro das comunidades microbianas naturais do local. Sendo assim, a escolha pelo microrganismo “perfeito” pode ocorrer de forma rígida, sendo a falha ou baixa eficiência dessa parceria resultante da incompatibilidade genética entre ambos os organismos (Liu et al., 2020b).

As alterações genéticas causadas pelos frequentes processos de melhoramento vegetal, por exemplo, focam exclusivamente em produtividade e proteção contra agentes patogênicos, deixando de lado as

relações simbióticas e mutualísticas entre a planta e o microbioma, as quais também são guiadas pelo genoma do hospedeiro (Pérez-Jaramillo et al., 2016; Porter; Sachs, 2020). Dessa forma, as mudanças genéticas provenientes dos processos de domesticação e melhoramento genético podem resultar em uma pleiotropia antagonista, afetando indiretamente as características do genoma que são relacionadas com a capacidade de simbiose com microrganismos benéficos (Porter; Sachs, 2020). Chang et al. (2020) relataram que as comunidades rizosféricas de fungos se diferenciaram entre os cultivares de sojas selvagens e modernos, onde uma maior diversidade fúngica com potencial funcional foi detectada nas plantas selvagens, como *Gibberella* que produz giberelinas, *Arthrobotrys* que auxilia no controle de nematoides, *Cladorrhinum* que auxilia no controle de *Rhizoctonia* em algodão e *Rhizophagus* que é um fungo micorrízico arbuscular (Gasoni; De Gurfinkel, 2009; Yang et al., 2011; Salazar-Cerezo et al., 2018). Por outro lado, nas plantas modernas, as principais comunidades de fungos encontradas eram relacionadas a absorção de nutrientes, como *Humicola*, *Myrothecium* e *Trichoderma*, os quais estão envolvidos principalmente na quebra de celulose e hemicelulose, bem como na decomposição de matéria orgânica (Riaz et al., 2007; Zhang et al., 2007; Chang et al., 2020).

As mudanças genéticas resultantes dos processos de melhoramento vegetal, além de atingirem os objetivos propostos, também podem originar alterações na arquitetura de raiz e na produção de metabólitos e outros compostos pela planta (Pérez-Jaramillo et al., 2016; Liu et al., 2020a). Estes fatores, por sua vez, estão diretamente relacionados com a maneira em que o hospedeiro interage com o microbioma do solo, visto que as comunidades microbianas utilizam os exsudatos da região rizosférica como fonte nutricional (Liu et al., 2020a). Apesar do grande número de estudos sobre o microbioma da soja, muitos focam nos processos relacionados a nodulação e fixação de nitrogênio pelos cultivares selvagens e modernos (Martínez-Romero et al., 2020), necessitando maiores compreensões nas alterações do microbioma dos demais compartimentos do vegetal.

Efeito do manejo agrícola no microbioma do solo e na rizosfera da soja

O manejo agrícola é o conjunto de práticas agrícolas aplicadas ao solo visando a produção vegetal (Alcântara; Madeira, 2008; Pillon; Avila, 2020). De forma geral, o manejo agrícola é convencional ou conservacionista. O manejo conservacionista inclui o manejo orgânico por substituição de insumos químicos, sistemas agroecológicos, plantio direto e rotação de culturas (Alcântara; Madeira, 2008). Além disso, o conceito de manejo inclui operações de cultivo, práticas culturais, práticas de correção e fertilização (Alcântara; Madeira, 2008, Knabben, 2020). Na abordagem convencional o solo é visto apenas como um suporte físico para sustentar as plantas enquanto na visão conservacionista ressalta-se o enfoque ecológico com o princípio de que o solo precisa estar vivo para produzir vida (Knabben, 2020). Esta vida é suportada pela microflora e mesofauna, sendo que a atividade e biomassa microbiana é apontada como um dos principais indicadores da qualidade biológica do solo (Silva et al., 2010; São-José et al., 2013; Rossmann et al., 2020; Neupane et al., 2021).

Dentre as principais formas de intervenção de manejo estão o preparo do solo (convencional, cultivo mínimo ou plantio direto) e o sistema de culturas (pousio, queimada, monocultivo, rotação de culturas, sistema integrados de agroflorestas e sistema integrado lavoura-pecuária-floresta) (Andreote;

Cardoso, 2016; Pillon; Avila, 2020). A forma de preparo do solo pode interferir na atividade microbiana e, conseqüentemente, em sua qualidade (Silva et al., 2010; Dadalto et al., 2015 Andreote; Cardoso, 2016; Neupane et al., 2021). Por exemplo, o sistema de preparo mecanizado influencia diretamente as propriedades físicas e biológicas do solo por meio da inserção de nutrientes e do revolvimento do solo (Rodrigues et al., 2013; Navarrete et al., 2015; Dadalto et al., 2015). Do mesmo modo, plantas de cobertura, serapilheira e produtos orgânicos também influenciam diretamente na relação C/N da biomassa microbiana e na respiração basal do solo, mobilizando matéria orgânica e ciclando nutrientes (Dadalto et al., 2015, Andreote; Cardoso, 2016).

Nos estudos realizados em solos com histórico de uso de sete anos com rotação de cultura (Lupatini et al., 2017) e vinte anos de manejo agrícola (Hartmann et al., 2015), foram observados que o tipo de manejo, convencional ou orgânico, impacta a composição estrutural do microbioma solo, podendo alterar a riqueza e a diversidade das comunidades microbianas associadas à planta. Todavia, os estudos demonstram que tratamentos alternativos ao uso de químicos para controlar patógenos residentes do solo, podem possibilitar manipulação de organismos chaves fornecendo respostas para o tipo de manejo, resultando em baixo impacto na estrutura da composição do microbioma (Lupatini et al., 2017). Assim como, a inserção de material orgânico, em solo com histórico de manejo convencional, pode minimizar a uniformidade estrutural e dispersão das comunidades microbiológicas em consequência do tipo de preparo e uso do solo (Hartmann et al., 2015). O manejo orgânico disponibiliza mais facilmente nutrientes essenciais para as plantas como nitrato, carbono lábil, cobre e enxofre, enquanto o manejo convencional aumenta o pH (Schmidt et al., 2019), conseqüentemente, o tipo de manejo pode selecionar e moldar a composição do microbioma da rizosfera e determinar as funções predominantes no solo.

Por fim, qualquer intervenção de manejo irá influenciar de alguma forma as comunidades biológicas residentes do solo, assim como os grupos recrutados pela rizosfera da soja. Portanto, a compreensão dos impactos causados por cada tipo de manejo permite mitigações nos efeitos negativos sob a biologia do solo visando a prática do manejo sustentável.

Manejo Convencional

O sistema de manejo convencional se baseia no emprego de produtos químicos destinados a nutrir as plantas cultivadas, o preparo do solo é geralmente invasivo e as plantas são cultivadas em monocultivo intensivo (Silva et al., 2010; São-José et al., 2013). O sistema de cultivo convencional depende do uso de agroquímicos, como fertilizantes sintéticos para aumentar a produtividade agrícola e o uso de fungicidas e pesticidas para promover a proteção das plantas contra patógenos (Kremen; Miles, 2012).

A intensificação do manejo com herbicidas é comum em plantas transgênicas, resistentes a glifosato (Kuklinsky-Sobral et al., 2005). O uso de agroquímicos tem implicações diretas no microbioma da endosfera. Os microrganismos endofíticos possuem diversas características benéficas que influenciam na aptidão do hospedeiro pela supressão de doenças, degradação de contaminantes e promoção de crescimento (Kuklinsky-Sobral et al., 2005). No entanto, a dinâmica de interações entre os microrganismos endofíticos e a planta está susceptível ao desequilíbrio quando exposta ao herbicida. Isso ocorre porque o agroquímico pode ser tóxico para alguns grupos microbianos enquanto pode favorecer outros ofertando

carbono e energia (Kuklinsky-Sobral et al., 2005). No trabalho de Kuklinsky-Sobral et al. (2005), o glifosato utilizado na cultura da soja modulou o microbioma da planta, reduzindo a diversidade microbiana por meio da redução de ocorrência de alguns grupos, e.g. *Pseudomonas* sp., e enriquecimento de outros grupos, e.g. *Herbaspirillum* sp. Os grupos endofíticos, selecionados pelo genótipo, são importantes para o desenvolvimento da planta, pois auxiliam em mecanismos essenciais das vias funcionais e metabólicas, como promoção de crescimento e solubilização de fosfato inorgânico, portanto, a perda de algum membro desse grupo microbiano funcional devido ao glifosato pode comprometer o desempenho da soja.

O revolvimento do solo causado pela prática agrícola abre nichos para colonização de grupos pioneiros, como acidobactérias, que deslocam outras populações microbianas (Rodrigues et al., 2013; Navarrete et al., 2015). A mudança do uso do solo, com conseqüente homogeneização do solo, causa perda de grupos biológicos em vários níveis tróficos comprometendo na diversidade biológica e diversidade metabólica daquele ecossistema (Rodrigues et al., 2013; Rossmann et al., 2020; Nikitin et al., 2020). Isso implica que um solo natural de floresta, que possuía alta biodiversidade de plantas, mesofauna e microrganismos perde nichos funcionais importantes durante a conversão de uso do solo para plantio agrícola, e conseqüentemente há um estreitamento da redundância funcional (São-José et al., 2013; Rodrigues et al., 2013; Navarrete et al., 2015; Nikitin et al., 2020). Embora exista uma perda na conversão do uso do solo de um sistema natural para um sistema agrícola, o manejo orgânico de sistemas de produção apresenta atenuações em relação ao manejo convencional quanto à composição estrutural das comunidades que compõem o microbioma do solo (Hartmann et al., 2015; Lupatini et al., 2017). O manejo orgânico, comparado ao manejo convencional, apresenta maior riqueza taxonômica e filogenética, diversidade e heterogeneidade microbiológica, portanto, menor perturbação na rede de interações entre os microrganismos do solo com a planta (Hartmann et al., 2015; Lupatini et al., 2017). Isso sugere que as práticas de manejo conservacionistas, por serem sustentáveis, permitem menor impacto na biologia do solo, assim como podem revitalizar solos microbiologicamente desestruturados (Hartmann et al., 2015), aumentando a frequência de microrganismos benéficos (Hartmann et al., 2015; Lupatini et al., 2017).

Manejo conservacionista

O manejo conservacionista do solo envolve práticas de menor impacto ecológico, com o mínimo de revolvimento do solo (Pillon; Avila, 2020; Knabben, 2020). Como é o caso, por exemplo, da rotação de culturas e plantio direto.

A diversidade de plantas na rotação de culturas é conhecida por influenciar a diversidade de microrganismos no solo e a produtividade da cultura comercial, mas as contribuições específicas dos microrganismos para os benefícios guiados pela rotação de culturas ainda estão sendo exploradas (Benitez et al., 2021). A diversidade de plantas melhora a qualidade biológica do solo aumentando a frequência microrganismos com características benéficas para as plantas que resulta em maior diversidade metabólica e funcional no solo (Andreote; Cardoso, 2016). As comunidades microbianas da rizosfera são fortes preditores da produtividade da cultura manejada, dependendo da diversidade de plantas rotacionadas e do histórico da cultura anterior (Benitez et al., 2021). Rotações de safra, em longo prazo, podem selecionar grupos de microrganismos que formam associações benéficas ou patogênicas com as culturas seguintes,

isso explicaria o porquê das culturas que se sucedem possuírem rendimentos diferentes dependendo do histórico de uso do solo (Neupane et al., 2021).

No estudo de Neupane et al. (2021) foram avaliados ao longo dos estágios de rotação de culturas (milho/milho/soja) amostras de solo rizosférico para analisar os indicadores de saúde do solo e os rendimentos dos grãos de soja e milho. O estudo relatou que abundâncias diferenciais de táxons bacterianos e fúngicos estavam relacionadas com as diferenças de rendimento de uma maneira específica em cada sítio apontando que os membros do microbioma auxiliaram no rendimento da soja e melhoraram a qualidade do solo. Por outro lado, a presença de patógeno foi relacionada com baixa produtividade.

Além de influenciar no rendimento e na qualidade biológica do solo, o tipo de manejo pode influenciar nas funções do solo. No estudo de Nikitin et al. (2020) foi observado que a conversão do uso da terra alterou grupos microbianos funcionais, por exemplo, nos solos com plantio convencional houve aumento do número de táxons amonificantes aeróbicos, desnitrificantes, celulíticos aeróbicos, actinomicetos e micromicetos, enquanto que em plantio direto (manejo conservacionista) houve aumento de táxons celulíticos anaeróbicos, fixadores de nitrogênio, diazotróficos aeróbicos e amilolíticos na comunidade microbiana do solo. Em relação a abundância, Nikitin et al. (2020) observou que o maior número de cópias de genes de bactérias e fungos são encontrados em plantio direto e o maior número de cópias de arqueias são verificadas em solo em pousio de longo prazo. Por fim, os dados obtidos no trabalho de Nikitin et al. (2020), atestam diferentes direções e intensidades dos processos biológicos do solo dependentes das condições de manejo e do preparo que os solos são submetidos.

Muitos estudos apontam que o uso do solo pode atuar na subtração da diversidade biológica do solo (Rodrigues et al., 2013; Navarrete et al., 2015; Nikitin et al., 2020; Rossmann et al., 2020), contudo, os modelos de manejo conservacionistas apresentam melhores resultados em relação a qualidade biológica (Nikitin et al., 2020; Neupane et al., 2021; Benitez et al., 2021) indicando a possibilidade de uma produção agrícola sustentável, utilizando e conservando a biologia solo e o microbioma das plantas, sob menor impacto ambiental quando comparado aos sistemas convencionais.

Considerações Finais

O adequado manejo do componente biológico do solo, seja por meio de práticas conservacionistas, pelo uso de bioinsumos ou pela exploração dos serviços ambientais oferecidos pelo microbioma do solo, favorece o equilíbrio biológico do solo resultando em produtividade e resiliência do sistema de produção contra estresses abióticos e bióticos. O emprego de técnicas avançadas de biologia molecular no estudo da interação entre comunidades microbianas complexas e a planta hospedeira, representa uma quebra de paradigma que leva a transição de uma abordagem tradicional baseada no uso de apenas um ou poucos microrganismos isolados, por exemplo inoculantes ou consórcios de inoculantes, para uma abordagem baseada no manejo do microbioma. A incorporação do manejo do microbioma em sistemas de produção tem o potencial de pavimentar o caminho para a produção mais sustentável da soja.

Referências

- ALCANTARA, F. A.; MADEIRA, N. R. **Manejo do solo no sistema de produção orgânico de hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças. 2008. 10 p. (Embrapa Hortaliças. Circular Técnica, 64).
- ANDREOTE, F. D.; CARDOSO, E. J. B. N. Introdução à biologia do solo. In: CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do Solo**, 2. ed. Piracicaba: ESALQ. 2016. p. 09-22.
- BARKA, E. A.; VATSA, P.; SANCHEZ, L.; GAVEAU-VAILLANT, N.; JACQUARD, C.; KLENK, H.; CLÉMENT, C.; OUHDOUCH, Y.; VAN-WEZEL G.P. Taxonomy, physiology, and natural products of *Actinobacteria*. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 80, n. 1, p. 1-43, 2016. DOI: 10.1128/MMBR.00019-15
- BENITEZ, M. S.; EWING, P. M.; OSBORNE, S. L.; LEHMAN, R. M. Rhizosphere microbial communities explain positive effects of diverse crop rotations on maize and soybean performance. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 159, n. 108309, p. 1-13, 2021. DOI: 10.1016/j.soilbio.2021.108309
- BERG, G.; RYBAKOVA, D.; FISCHER, D.; CERNAVA, T.; VERGÈS, M.C.; CHARLES, T.; CHEN, X.; COCOLIN, L.; EVERSOLE, K.; CORRAL, G.; KAZOU, M.; KINKEL, L.; LANGE, L.; LIMA, N.; LOY, A.; MACKLIN, J.; MAGUIN, E.; MAUHLIN, T.; MCCLURE, R.; MITTER, B.; RYAN, M.; SARAND, I.; SMIDT, H.; SCHELKLE, B.; ROUME, H.; KIRAN, G.S.; SELVIN, J.; SOUZA, R.S.C.; OVERBEEK, L.V.; SINGH, B.K.; WAGNER, M.; WALSH, A.; SESSITSCH, A.; SCHLOTER, M. Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. **Microbiome**, v. 8, n. 103, p. 1-22, 2020. DOI: 10.1186/s40168-020-00875-0
- CHANG, C.; CHEN, W.; LUO, S.; MA, L.; LI, X.; TIAN, C. Rhizosphere microbiota assemblage associated with wild and cultivated soybeans grown in three types of soil suspensions. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 65, n. 1, p. 74-87, 2019. DOI: 10.1080/03650340.2018.1485147
- CHANG, C.; ZHANG, J.; LIU, T.; LIU, T.; SONG, K.; XIE, J.; LUO, S.; QU, T.; ZHANG, J.; TIAN, C.; ZHANG, J. Rhizosphere fungal communities of wild and cultivated soybeans grown in three different soil suspensions. **Applied Soil Ecology**, v. 153, p. 1-9, 2020. DOI: 10.1016/j.apsoil.2020.103586
- DADALTO, J. P.; FERNANDES, H. C.; TEIXEIRA, M. M.; CECON, P. R.; MATOS, A. T. D. Sistema de preparo do solo e sua influência na atividade microbiana. **Engenharia Agrícola**, v. 35, p. 506-513, 2015. DOI: 10.1590/1809-4430-Eng.Agric.v35n3p506-513/2015
- FIERER, N. Embracing the unknown: disentangling the complexities of the soil microbiome. **Microbiome Reviews**, v. 15, p. 579-590, 2017. DOI: 10.1038/nrmicro.2017.87
- GASONI, L.; DE GURFINKEL, S. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* by the endophytic fungus *Cladorthium foecundissimum* in cotton plants. **Australasian Plant Pathology**, v. 38, n. 4, p. 389-391, 2009. DOI: 10.1071/AP09013
- GOSS-SOUZA, D.; MENDES, L. W.; BORGES, C. D.; RODRIGUES, J. L.; TSAI, S. M. Amazon forest-to-agriculture conversion alters rhizosphere microbiome composition while functions are kept. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 95, n. 3, p. fiz009, 2019. DOI: 10.1093/femsec/fiz009
- GOSS-SOUZA, D.; MENDES, L. W.; RODRIGUES, J. L. M.; TSAI, S. M. Ecological processes shaping bulk soil and rhizosphere microbiome assembly in a long-term Amazon forest-to-agriculture conversion. **Microbial Ecology**, v. 79, n. 1, p. 110-122, 2020. DOI: 10.1007/s00248-019-01401-y
- HAN, Q.; MA, Q.; CHEN, Y.; TIAN, B.; XU, L.; BAI, Y.; CHEN, W.; LI, X. Variation in rhizosphere microbial communities and its association with the symbiotic efficiency of rhizobia in soybean. **The ISME Journal**, v. 14, p. 1915-1928, 2020. DOI: 10.1038/s41396-020-0648-9
- HARTMANN, A.; ROTHBALLER, M.; SCHMID, M. Lorenz Hiltner, a pioneer in rhizosphere microbial ecology and soil bacteriology research. **Plant and Soil**, v. 312, n. 1, p. 7-14, 2008. DOI: 10.1007/s11104-007-9514-z
- HARTMANN, M.; FREY, B.; MAYER, J.; MÄDER, P.; WIDMER, F. Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming. **The ISME Journal**, v. 9, n. 5, p. 1177-1194, 2015. DOI: 10.1038/ismej.2014.210
- HILTNER, L. Ueber neuere erfahrungen und probleme auf dem gebiete der bodenbakteriologie und unter besonderer berucksichtigung der grundung und brache. **Arbeiten der Deutschen Landwirtschaftliche Gesellschaft**, v. 98, p. 59-78, 1904.
- JANSSON, J. K.; NEUFELD, J. D.; MORAN, M. A.; GILBERT, J. A. Omics for understanding microbial functional dynamics. **Environmental Microbiology**, v. 14, n. 1, p. 1-3, 2012. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2011.02518.x
- JIAO, S.; XU, Y.; ZHANG, J.; HAO, X.; LU, Y. Core microbiota in agricultural soils and their potential associations with nutrient cycling. **Applied and Environmental Science**, v. 4, n. 2, p. 1-16, 2019. DOI: 10.1128/mSystems.00313-18
- JING, X.; SANDERS, N. J.; SHI, Y.; CHU, H.; CLASSEN, A. T.; ZHAO, K.; CHEN, L.; SHI, Y.; JIANG, Y.; HE, J. S. The links between ecosystem multifunctionality and above- and belowground biodiversity are mediated by climate. **Nature Communications**, v. 6, p. 1-8, 2015. DOI: 10.1038/ncomms9159
- KUKLINSKY-SOBRAL, J.; ARAUJO, W. L.; MENDES, R.; PIZZIRANI-KLEINER, A. A.; AZEVEDO, J. L. Isolation and characterization of endophytic bacteria from soybean (*Glycine max*) grown in soil treated with glyphosate herbicide. **Plant and Soil**, v. 273, n. 1, p. 91-99, 2005. DOI: 10.1007/s11104-004-6894-1

- KREMEN, C.; MILES, A. Ecosystem services in biologically diversified versus conventional farming systems: benefits, externalities, and trade-offs. **Ecology and Society**, v. 17, n. 4, 2012. DOI: 10.5751/ES-05035-170440
- KNABBen, V. M. A importância do conhecimento e do manejo biológico do solo tropical para a agroecologia sob a perspectiva de Ana Maria Primavesi. **AMBIENTES: Revista de Geografia e Ecologia Política**, v. 2, n. 2, p. 190, 2020. DOI: 10.48075/amb.v2i2.26587
- LONGLEY, R.; NOEL, Z. A.; BENUCCI, G. M. N.; CHILVERS, M. I.; TRAIL, F.; BONITO, G. Crop management impacts the soybean (*Glycine max*) microbiome. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 1116, 2020. DOI: 10.3389/fmicb.2020.01116
- LETTICE, E. P. The rhizosphere: measuring the zone of interaction. **Annual Plant Reviews**, v. 2, p. 1-17, 2019. DOI: 10.1002/9781119312994.apr0683
- LUPATINI, M.; KORTHALS, G. W.; DE HOLLANDER, M.; JANSSENS, T. K.; KURAMAE, E. E. Soil microbiome is more heterogeneous in organic than in conventional farming system. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. 2064, p. 1-13, 2017. DOI: 10.3389/fmicb.2016.02064
- LI, C.; LI, X.; KONG, W.; WU, Y.; WANG, J. Effect of monoculture soybean on soil microbial community in the Northeast China. **Plant and Soil**, v. 330, p. 423-433, 2010. DOI: 10.1007/s11104-009-0216-6
- LIU, F.; HEWEZI, T.; LEBEIS, S. L.; PANTALONE, V.; GREWAL, P. S.; STATON, M. E. Soil indigenous microbiome and plant genotypes cooperatively modify soybean rhizosphere microbiome assembly. **BMC Microbiology**, v. 19, p. 201, p. 1-19, 2019a. DOI: 10.1186/s12866-019-1572-x
- LIU, H.; PAN, F.; HAN, X.; SONG, F.; ZHANG, Z.; YAN, J.; XU, Y. Response of soil fungal community structure to long-term continuous soybean cropping. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 1-13, 2019b. DOI: 10.3389/fmicb.2018.03316
- LIU, A.; KU, Y.; CONTADOR, C. A.; LAM, H. The impacts of domestication and agricultural practices on legume nutrient acquisition through symbiosis with rhizobia and arbuscular mycorrhizal fungi. **Frontiers in Genetics**, v. 11, p. 1-11, 2020a. DOI: 10.3389/fgene.2020.583954
- LIU, J.; YU, X.; QIN, Q.; DINKINS, R. D.; ZHU, H. The impacts of domestication and breeding on nitrogen fixation symbiosis in legumes. **Frontiers in Genetics**, v. 11, p. 1-9, 2020b. DOI: 10.3389/fgene.2020.00973
- LIU, F.; RICE, J. H.; LOPES, V.; GREWAL, P.; LEBEIS, S. L.; HEWEZI, T.; STATON, M. E. Overexpression of strigolactone-associated genes exerts fine-tuning selection on soybean rhizosphere bacterial and fungal microbiome. **Phytobiomes Journal**, v. 4, n. 3, p. 239-251, 2020c. DOI: 10.1094/PBIOMES-01-20-0003-R
- MONTANARI-COELHO, K. K.; COSTA, A. T.; POLONIO, J. C.; AZEVEDO, J. L.; MARIN, S. R. R. Endophytic bacterial microbiome associated with leaves of genetically modified (AtAREB1) and conventional (BR 16) soybean plants. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 34, n. 4, p. 1-11, 2018. DOI: 10.1007/s11274-018-2439-2
- MOROENYANE, I.; TREMBLAY, J.; YERGEAU, E. Temporal and spatial interactions modulate the soybean microbiome. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 97, n. f1aa206, p. 1-12, 2021a. DOI: 10.1093/femsec/f1aa206
- MOROENYANE, I.; MENDES, L.; TREMBLAY, J.; TRIPATHI, B.; YERGEAU, É. Plant compartments and developmental stages modulate the balance between niche-based and neutral processes in soybean microbiome. **Microbial Ecology**, p. 1-13, 2021b. DOI: 10.1093/femsec/f1aa206
- MARTÍNEZ-ROMERO, E.; AGUIRRE-NOYOLA, J. L.; TACO-TAYPE, N.; MARTÍNEZ-ROMERO, J.; ZUÑIGA-DÁVILA, D. Plant microbiota modified by plant domestication. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 43, p. 1-9, 2020. DOI: 10.1016/j.sysapm.2020.126106
- MAYHOOD, P.; MIRZA, B. S. Soybean root nodule and rhizosphere microbiome: distribution of rhizobial and nonrhizobial endophytes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 87, n. 10, p. 1-14, 2021. DOI: 10.1128/AEM.02884-20
- MENDES, R.; GARBEVA, P.; RAAIJMAKERS, J. M. The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 37, n. 5, p. 634-663, 2013. DOI: 10.1111/1574-6976.12028
- MENDES, R.; RAAIJMAKERS, J. M. Cross-kingdom similarities in microbiome functions. **ISME Journal**, v. 9, p. 1905-1907, 2015. DOI: 10.1038/ismej.2015.7
- MEYER, S. T.; PTACNIK, R.; HILLEBRAND, H.; BESSLER, H.; BUCHMANN, N. Biodiversity-multifunctionality relationships depend on identity and number of measured functions. **Nature Ecology & Evolution**, v. 2, p. 44-49, 2018. DOI: 10.1038/s41559-017-0391-4
- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: Editora da Universidade Federal de Lavras. 2006. 729 p.
- NANNIPIERI, P.; PENTON, C. R.; PURAHONG, W.; SCHLOTER, M.; ELSAS, J. D. van. Recommendations for soil microbiome analyses. **Biology and Fertility of Soils**, v. 55, p. 765-766, 2019. DOI: 10.1007/s00374-019-01409-z
- NAVARRETE, A. A.; VENTURINI, A. M.; MEYER, K. M.; KLEIN, A. M.; TIEDJE, J. M.; BOHANNAN, B. J.; RODRIGUES, J. L. Differential response of Acidobacteria subgroups to forest-to-pasture conversion and their biogeographic patterns in the western Brazilian Amazon. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, n. 1443, p. 1-10, 2015. DOI: 10.3389/fmicb.2015.01443
- NAYLOR, D.; FANSLER, S.; BRISLAW, C.; NELSON, W. C.; HOFMOCKEL, K. S.; JANSSON, J. K.; MCCLURE, R. Deconstructing the soil microbiome into reduced-complexity functional modules. **Applied and Environmental Science**, v. 11, n. 4, p. 1-19, 2020. DOI: 10.1128/mBio.01349-20
- NEUPANE, A.; BULBUL, I.; WANG, Z.; LEHMAN, R. M.; NAFZIGER, E.; MARZANO, S. Y. L. Long term crop rotation effect on subsequent soybean yield explained by soil and root-associated microbiomes and soil health indicators. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1-13, 2021. DOI: 10.1038/s41598-021-88784-6

- NIKITIN, D. A.; IVANOVA, E. A.; ZHELEZOVA, A. D.; SEMENOV, M. V.; GADZHUMAROV, R. G.; TKHAKAKHOVA, A. K.; KUTOVAYA, O. V. Assessment of the Impact of No-Till and Conventional Tillage Technologies on the Microbiome of Southern Agrochernozems. **Eurasian Soil Science**, v. 53, n. 12, p. 1782-1793, 2020. DOI: 10.1134/S106422932012008X
- PASCALE, A.; PROIETTI, S.; PANTELIDES, I. S.; STRINGLIS, I. A. Modulation of the root microbiome by plant molecules: the basis for targeted disease suppression and plant growth promotion. **Frontier in Plant Science**, v. 10, n. 1741, p. 1-23, 2020. DOI: 10.3389/fpls.2019.01741
- PÉREZ-JARAMILLO, J. E.; MENDES, R.; RAAIJMAKERS, J. M. Impact of plant domestication on rhizosphere microbiome assembly and functions. **Plant Molecular Biology**, v. 90, p. 635-644, 2016. DOI: 10.1007/s11103-015-0337-7
- PILLON, C. N.; MIURA, A. K.; GUARINO, E. de S. G.; ANTUNES, I.F.; SCHWENGBER, J.E.; GOMES J.C.C; SOUSA L.P DE; WINCKLER L.T.; HOFFMANN A.; ÁVILA M.R. DE EICHOLZ, E. D.; BEVILAQUA G.A.P.; HENZEL, A.B.D.; NORONHA, A.; FOESCH M.D.S.; WELLER E.; GOMES, G.C.; MOLINA, A.R.; BESKOW, G.T.; SOARES, M.M. **Princípios para conservação e uso sustentável dos recursos naturais e da biodiversidade: bases teóricas para processos de capacitação**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2020. 33 p. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 490).
- PORTER, S. S.; SACHS, J. L. Agriculture and the disruption of plant-microbial symbiosis. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 35, n. 5, p. 426-439, 2020. DOI: 10.1016/j.tree.2020.01.006
- QIAO, Q.; WANG, F.; ZHANG, J.; CHEN Y, ZHANG C, LIU G, ZHANG H, MA C, ZHANG J. The variation in the rhizosphere microbiome of cotton with soil type, genotype and developmental stage. **Scientific Reports**, v. 7, n. 3940, p. 1-10, 2017. DOI: 10.1038/s41598-017-04213-7
- RIAZ, M.; PERVEEN, R.; JAVED, M. R.; NADEEM, H.; RASHID, M. H. Kinetic and thermodynamic properties of novel glucoamylase from *Humicola* sp. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 41, n. 5, p. 558-564, 2007. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2007.05.010
- RODRIGUES, J. L.; PELLIZARI, V. H.; MUELLER, R.; BAEK, K.; JESUS, E. D. C.; PAULA, F. S.; NÜSSLEIN, K. Conversion of the Amazon rainforest to agriculture results in biotic homogenization of soil bacterial communities. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, n. 3, p. 988-993, 2013. DOI: 10.1073/pnas.1220608110
- ROSSMANN, M.; PÉREZ-JARAMILLO, J. E.; KAVAMURA, V. N.; CHIARAMONTE, J. B.; DUMACK, K.; FIORE-DONNO, A. M.; MAUCHLINE, T. H. Multitrophic interactions in the rhizosphere microbiome of wheat: from bacteria and fungi to protists. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 96, n. 4, 2020. DOI: doi.org/10.1093/femsec/fiaa032
- SALAZAR-CEREZO, S.; MARTÍNEZ-MONTIEL, N.; GARCÍA-SÁNCHEZ, J.; PÉREZ-Y-TERRÓN, R.; MARTÍNEZ-CONTRERAS, R.D. Gibberellin biosynthesis and metabolism: a convergent route for plants, fungi and bacteria. **Microbiological Research**, v. 208, p. 85-98, 2018. DOI: 10.1016/j.micres.2018.01.010
- SAPP, M.; PLOCH, S.; FIORE-DONNO, A. M.; BONKOWSKI, M.; ROSE, L. E. Protists are an integral part of the *Arabidopsis thaliana* microbiome. **Environmental Microbiology**, v. 20, n. 1, p. 30-43, 2018. DOI: 10.1111/1462-2920.13941
- SÃO-JOSÉ, J. B. S.; RIEFF, G.; SÁ, E. L. S. Mesofauna edáfica e atividade microbiana em diferentes sistemas de manejo do solo na cultura do tabaco. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 19, p. 56-66, 2013.
- SEDIV, E. J.; WU, F.; HANZAWA, Y. Soybean domestication: the origin, genetic architecture, and molecular bases. **New Phytologist**, v. 214, p. 539-553, 2017. DOI: 10.1111/nph.14418
- SHEN, X.; STEENWYK, J. L.; LABELLA, A. L.; OPULENTE, D.A.; KOMINEK X.Z.; LI Y.; GROENEWALD, M.; HITTINGER, C.T.; ROKAS A. Genome-scale phylogeny and contrasting modes of genome evolution in the fungal phylum Ascomycota. **Science Advances**, v. 6, p. 1-12, 2020. DOI: 10.1126/sciadv.abd0079
- SILVA, R. R. D.; SILVA, M. L. N.; CARDOSO, E. L.; MOREIRA, F. M. D. S.; CURI, N.; ALOVISI, A. M. T. Biomassa e atividade microbiana em solo sob diferentes sistemas de manejo na região fisiográfica Campos das Vertentes-MG. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, p. 1584-1592, 2010. DOI: 10.1590/S0100-06832010000500011
- SOHN, S. I.; AHN, J. H.; PANDIAN, S.; OH, Y. J.; SHIN, E. K.; KANG, H. J.; CHO, W. S.; CHO, Y. S.; SHIN, K. S. Dynamics of bacterial community structure in the rhizosphere and root nodule of soybean: Impacts of growth stages and varieties. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 5577, p. 1-17, 2021. DOI: 10.3390/ijms22115577
- SOLTANI, A. A.; KHAVAZI, K.; ASADI-RAHMANI, H.; OMIDVARI, M.; DAHAJI, P. A.; MIRHOSEYNI, H. Plant growth promoting characteristics in some *Flavobacterium* spp. isolated from soils of Iran. **Journal of Agricultural Science**, v. 2, n. 4, p. 106-115, 2010. DOI: 10.5539/jas.v2n4p106
- SUGIYAMA, A.; UEDA, Y.; TAKASE, H.; YAZAKI, K. Do soybeans select specific species of Bradyrhizobium during growth? **Communicative & Integrative Biology**, v. 8, n. 1, p. e992734, 2015. DOI: 10.1016/j.jare.2019.03.005
- SCHMIDT, J. E.; VANNETTE, R. L.; IGWE, A.; BLUNDELL, R.; CASTEEL, C. L.; GAUDIN, A. C. Effects of agricultural management on rhizosphere microbial structure and function in processing tomato plants. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 85, n. 16, p. e01064-19, 2019. DOI: 10.1128/AEM.01064-19

- TIAN, L.; SHI, S.; SUN, Y.; TRAN, L. P.; TIAN, C. The compositions of rhizosphere microbiomes of wild and cultivated soybeans changed following the hybridization of their F1 and F2 generations. **European Journal of Soil Biology**, v. 101, p. 1-8, 2020. DOI: 10.1016/j.ejsobi.2020.103249
- VAN WEES, S. C. M.; VAN DER ENT, S.; PIETERSE, C. M. J. Plant immune responses triggered by beneficial microbes. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 11, p. 443-448, 2008. DOI: 10.1016/j.pbi.2008.05.005
- WANG, D.; YANG, S.; TANG, F.; ZHU, H. Symbiosis specificity in the legume - rhizobial mutualism. **Cellular Microbiology**, v. 14, n. 3, p. 334-342, 2012. DOI: 10.1111/j.1462-5822.2011.01736.x
- WANG, H.; GU, C.; LIU, X.; YANG, C.; LI, W.; WANG, S. Impact of soybean nodulation phenotypes and nitrogen fertilizer levels on the rhizosphere bacterial community. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 750, 2020. DOI: 10.3389/fmicb.2020.00750
- WANG, P.; MARSH, E. L.; AINSWORTH, E. A.; LEAKEY, A. D.; SHEFLIN, A. M.; SCHACHTMAN, D. P. Shifts in microbial communities in soil, rhizosphere and roots of two major crop systems under elevated CO₂ and O₃. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1-12, 2017. DOI: 10.1038/s41598-017-14936-2
- YANG, J.; WANG, L.; JI, X.; FENG, Y.; LI X.; ZOU, C.; XU, J.; REN, Y.; MI, Q.; WU, J.; LIU, S.; LIU, Y.; HUANG, X.; WANG, H.; NIU, X.; LI, J.; LIANG, L.; LUO, Y.; JI, K.; ZHOU, W.; YU, Z.; LI, G.; LIU, Y.; LI, L.; QIAO, M.; FENG, L.; ZHANG K. Genomic and proteomic analyses of the fungus *Arthrobotrys oligospora* provide insights into nematode-trap formation. **PLoS Pathogens**, v. 7, n. 9, p. 1-12, 2011. DOI: 10.1371/journal.ppat.1002179
- YOUNGINGER, B. S.; FRIESEN, M. L. Connecting signals and benefits through partner choice in plant-microbe interactions. **FEMS Microbiology Letters**, v. 366, p. 1-11, 2019. DOI: 10.1093/femsle/fnz217
- ZHANG, X.; LIU, Y.; YAN, K.; WU, H. Decolorization of anthraquinone-type dye by bilirubin oxidase-producing nonligninolytic fungus *Myrothecium* sp. IMER1. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 104, n. 1, p. 104-110, 2007. DOI: 10.1263/jbb.104.104
- ZHONG, Y.; YANG, Y.; LIU, P.; XU, R.; RENSING, C.; FU, X.; LIAO, H. Genotype and rhizobium inoculation modulate the assembly of soybean rhizobacterial communities. **Plant, Cell & Environment**, v. 42, p. 2028-2044, 2019. DOI: 10.1111/pce.13519



PARTE IV

MANEJO DE PLANTAS DANINHAS E DOENÇAS

Controle biológico de plantas daninhas

Fernando Storniolo Adegas

Alexandre Ferreira da Silva

Germani Concenço

Introdução

A história da ciência das plantas daninhas se confunde com a história do homem e da agricultura (Ferrero et al., 2007). As plantas indesejáveis, infestantes ou daninhas, existem desde que o homem deixou de ser nômade, ou seja, quando esse passou a criar animais e a cultivar plantas próximo ao local de habitação, sendo definidas como qualquer planta que ocorre onde não é desejada, ou então uma planta sem valor econômico ou que compete, com o homem, pelo solo (Silva et al., 2007). Em termos simples, uma planta pode ser considerada daninha se estiver direta ou indiretamente prejudicando determinada atividade humana.

Ao longo da evolução dos processos de produção agrícola, diversos métodos de manejo das plantas daninhas foram desenvolvidos; cada um com suas vantagens e suas limitações e problemas. O crescimento populacional e a queda da fertilidade dos solos após anos de sucessivas culturas no continente europeu causaram, entre outros problemas, a escassez de alimentos. Nesse sentido, por volta dos séculos XVIII e XIX, intensifica-se a adoção de sistemas de rotação de culturas com plantas forrageiras (gramíneas e leguminosas) e as atividades de pecuária e agricultura se integram. Essa fase é conhecida como a Primeira Revolução Agrícola Contemporânea.

Em 1837, John Deere construiu um arado em aço que permitiu que áreas até então consideradas inutilizadas nos EUA fossem aproveitadas para agricultura, o que reforçou o simbolismo de que foi o arado o grande responsável pelo progresso da agricultura. Mesmo com a invenção do trator a vapor em 1850 e com o desenvolvimento do trator a gasolina no início de 1900, somente após 1920 os avanços na agricultura mecanizada tornaram-se importantes no controle de plantas daninhas. Vários autores citam que no início do século 20 ocorreu a transição do uso da tração animal para a mecanização em muitas tarefas agrícolas, inclusive para o controle de plantas daninhas (Timmons, 1970). Foi exatamente na década de 1920 que surgiram as primeiras aplicações práticas do controle biológico, com introdução de inimigos naturais específicos, para controle de infestações de cactos, na Austrália.

Outro período de intensa transformação na agricultura aconteceu no final do século XIX e início do século XX, principalmente na Europa e nos EUA. Descobertas científicas, aliadas ao grande desenvolvimento tecnológico como o uso de fertilizantes químicos, motores de combustão interna, melhoramento genético de plantas, desenvolvimentos de substâncias com propriedades herbicidas e irrigação, acabaram por impor um novo padrão de desenvolvimento para a agricultura. Essas mudanças abriram as portas para o desenvolvimento de sistemas mais intensivos de produção, marcando o início de uma nova etapa na história da agricultura, a Segunda Revolução Agrícola Contemporânea, também chamada de “Revolução Verde” (Ehlers, 1996). Essa foi a época em que se iniciou o controle de plantas daninhas por métodos químicos, através do uso de herbicidas.

As plantas daninhas “mudam” em resposta às práticas agrícolas (Aldrich; Kremer, 1997). Assim, a partir do início dos anos 2000 se intensificaram os casos de plantas daninhas resistentes ou altamente tolerantes aos herbicidas, levando diversas culturas a sérios problemas de manejo das invasoras (Agostinetto; Vargas, 2014).

Manejo integrado de plantas daninhas

Didaticamente, podemos definir o manejo integrado de plantas daninhas (MIPD) como a seleção e a integração de métodos de controle e o conjunto de critérios para a sua utilização, com resultados favoráveis dos pontos de vista agrônomo, econômico, ecológico e social (Adegas, 1997).

Para se obter um controle eficaz das populações infestantes se faz necessário direcionar o manejo da lavoura para atenuação da ocorrência das plantas daninhas, baseado no manejo integrado. Em outras palavras, os métodos mecânicos, físicos, culturais, químicos e biológicos de manejo das invasoras devem trabalhar em consonância para o bem comum do cultivo (Lamas, 2013). Em termos gerais, as práticas como a rotação de culturas, a rotação de princípios ativos herbicidas, a integração lavoura-pecuária, a cobertura do solo na entressafra, os consórcios de cultivos e a época de semeadura devem ser preconizadas em todos os ambientes de produção agropecuária para a supressão das plantas daninhas.

O controle biológico

O controle biológico de plantas daninhas consiste na utilização de parasitas, predadores ou patógenos capazes de reduzir a população de plantas daninhas e conseqüentemente a sua capacidade de competir, por meio do equilíbrio populacional entre o inimigo natural e a planta-alvo. Também se inclui como controle biológico o efeito alelopático de determinadas espécies vegetais sobre outras (Silva et al., 2007).

No conceito do manejo integrado, o controle biológico deve ser complementado e/ou associado com métodos culturais, físicos e químicos. De maneira geral, a eficiência do controle biológico quando utilizado de maneira isolada para o controle de um complexo florístico não é satisfatória. Os agentes de controle, usualmente, são específicos para o controle de uma determinada espécie. Estratégias de controle biológico vem sendo utilizadas com sucesso no manejo de plantas invasoras em pastagens, corpos hídricos, reservas florestais, infestantes de difícil controle e especialmente na agricultura orgânica, através das práticas de controle culturais, como cobertura verde e palhada e das práticas mecânicas, como a capina manual e a roçada.

As estratégias de controle biológico podem ser classificadas em três tipos principais: clássica ou inoculativa, inundativa e aumentativa (Tessmann, 2011).

Estratégia de controle clássica (inoculativa)

O controle biológico clássico é uma estratégia utilizada, principalmente, para o manejo de plantas daninhas introduzidas de outros continentes ou regiões geograficamente distantes (Boyetchko, 1997). Essas plantas, usualmente, quando introduzidas estão isentas de seus inimigos naturais e não encontram pressão de predação e parasitismo em seu novo ambiente. Dessa forma, essa estratégia de manejo depende da importação de um ou mais inimigos naturais (insetos ou patógenos) da região de origem da planta daninha. Após a introdução desse agente de controle biológico é esperado que ele se autopropague, se disperse e se estabeleça de modo a promover o controle de plantas daninhas ao longo tempo. O controle biológico clássico é considerado uma resposta ecológica, pois visa manter a população da planta daninha-alvo abaixo do nível de dano econômico, social e ambiental (Tebeest et al., 1992). O objetivo do controle biológico clássico não é a imediata redução ou eliminação das plantas daninhas-alvo, mas sim a redução e a estabilização em longo prazo da densidade dessas plantas em determinada área (Tessmann, 2011).

Os organismos buscados são aqueles que tenham coevoluído com as plantas, que sejam específicos para determinadas espécies ou grupo de espécies de plantas e que não possuam hospedeiras alternativas na área onde o inimigo natural vai ser introduzido (Boyetchko et al., 2002). Somente a partir de então os organismos selecionados serão liberados nas áreas onde o controle é desejado. Como regra geral, tais liberações seguem exaustivas avaliações relativas ao seu impacto ambiental nos novos ambientes (Tessmann, 2011). A estratégia de controle clássico tem sido utilizada com sucesso no controle de plantas daninhas que invadem áreas de pastagens extensivas, reservas florestais e ecossistemas frágeis, como por exemplo, os ecossistemas aquáticos.

Um dos principais exemplos de controle biológico clássico, foi relatado por Zimmermann et al. (2004), trata-se do controle de cactos (*Opuntia* spp.). De acordo com os autores, plantas desse gênero foram introduzidas na Austrália em 1839 como ornamentais e alimentícias. Em 1870 foram classificadas como plantas daninhas e em 1895 se enquadravam entre as dez piores infestantes. Em 1915 a área infestada correspondia a, aproximadamente, 60 milhões de acres, apresentando taxas de infestação em alguns estados de 1 milhão de acres/ano. Em 1920 criou-se um comitê para avaliar estratégias de controle da espécie e optou-se pela abordagem do controle biológico clássico. Dessa forma, entomologistas foram enviados ao continente americano, para avaliar inimigos naturais de cactos, desde a Argentina até o sul dos Estados Unidos. Dentre os organismos selecionados, o inseto *Cactoblastis cactorum*, nativo da Argentina, mostrou total especificidade e grande poder de predação. Em 1925 foi introduzido nas áreas infestadas da Austrália. Após 10 anos a infestação de plantas do gênero *Opuntia* foi reduzida a níveis superiores a 80% nas áreas problemáticas.

Três fungos fitopatogênicos originários do Brasil já foram introduzidos em diferentes regiões do mundo para biocontrole clássico (Vieira et al., 2018). *Colletotrichum gloeosporioides* sp. *miconiae* introduzido no Hawaii e no Tahiti para o controle de *Miconia calvescens* (Killgore et al., 1997; Meyer et al., 2008). O segundo, um fungo causador de ferrugem, *Uredo tuberculata* (sin. *Prospodium tuberculatum*),

introduzido na Austrália para o controle biológico de *Lantana camara* (Ellison et al., 2006). O terceiro, o fungo *Kordyana* sp., introduzido como alternativa para o controle de *Tradescantia fluminensis*, invasora em florestas da Austrália e Nova Zelândia (Fowler et al., 2013). No entanto, o Brasil nunca adotou essa estratégia de manejo, apesar dos numerosos exemplos de espécies de plantas exóticas invadindo os ecossistemas brasileiros e causando impactos ambientais e econômicos significativos (Zenni; Ziller, 2011, Ellison; Barreto, 2004).

De maneira geral, essa estratégia de controle não é a mais indicada para o manejo em culturas anuais, por causa da sua lentidão no controle das plantas daninhas em comparação com a curta duração do ciclo das culturas (Costa et al., 2018).

Estratégia de controle inundativa

A estratégia inundativa para o controle biológico envolve a produção em massa e a aplicação de um agente específico de controle com alto nível de inóculo sobre a área infestada pela planta daninha alvo (Boyetchko, 1997). Os agentes de controle utilizados nessa estratégia são fungos, bactérias e vírus fitopatogênicos. Ao contrário do controle biológico clássico, essa estratégia objetiva proporcionar o rápido controle da planta daninha-alvo. De maneira semelhante ao controle químico, há necessidade de aplicações regulares do agente de controle biológico na área, pois ele não sobrevive em densidade suficiente ou, dependendo do tipo de patógeno, não se multiplica nos restos da cultura (Boyetchko et al., 2002). O inóculo do patógeno pode ser aplicado por métodos convencionais, similares aos utilizados para a aplicação dos agrotóxicos. Devido à similaridade à estratégia química, a estratégia inundativa, também, tem sido chamada de micoherbicida ou bioherbicida.

De acordo com Charudattan e Dinoor (2000) bioherbicida é definido como um agente biológico que proporciona controle de plantas daninhas por meio de aplicações sequenciais de seu inóculo. Nos Estados Unidos e em muitos outros países, a utilização de microrganismos como agentes de controle de plantas

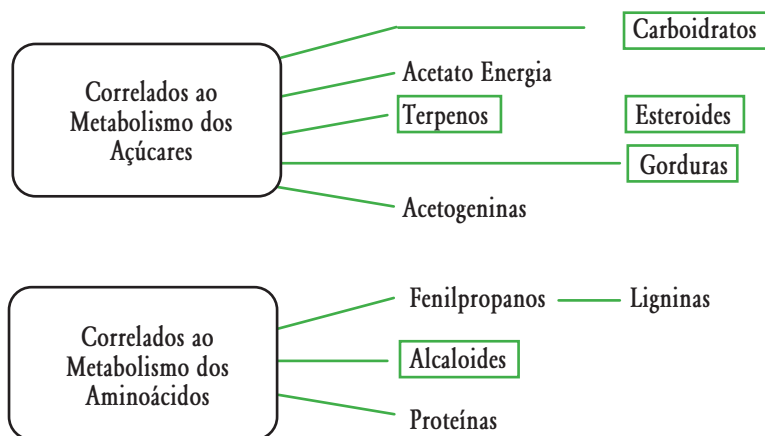


Figura 1. Esquema geral do metabolismo dos açúcares e aminoácidos. Grupos marcados são aqueles primordialmente relacionados à produção de substâncias alelopáticas.

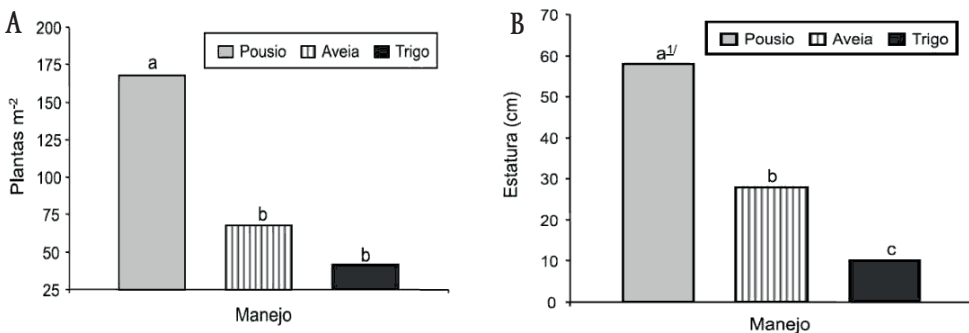
Fonte: Concenço et al. (2018).

daninhas é considerado como uma aplicação de pesticida e, portanto, esses agentes devem ser registrados ou aprovados como biopesticidas por agências governamentais apropriadas.

De acordo com Vieira et al. (2018), os bioherbicidas vêm sendo desenvolvidos, registrados e comercializados desde a década de 1980, mas não no Brasil. Dentre os produtos disponíveis no mercado pode-se citar: LockDown™ - *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *aeschyromene*, para o controle de *Aeschynomene virginica*; Devine^R - *Phytophthora palmivora*, para o controle de *Morrenia odorata*; Bio-mal^R - *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *malvae*, para *Malva pusila*; CASST^T - *Alternaria cassiae* para o controle de *Cassia obtusifolia* e Camperico™ - *Xantomonas campestris* pv. *poae*, para o controle de *Poa annua*. Um novo bioherbicida foi desenvolvido a partir de um vírus, o Tobacco Mild Green Mosaic Virus (TMG) (Charudattan et al., 2004). Esse vírus produz uma reação letal de hipersensibilidade quando aplicado sobre plantas de joá-bravo (*Solanum viarum*). Testes demonstraram que o vírus é um agente de biocontrole eficiente e específico que resultou em pedido de patente e recente liberação para uso nos Estados Unidos pela EPA.

Atualmente, um bioherbicida a base de *Colletotrichum gloeosporioides* f.sp. *aeschyromene*, denominado Collego[®] está registrado para o controle de plantas daninhas em soja, recomendado para controlar *Aeschynomene virginica*, uma planta daninha importante em cultivos no Arkansas, Mississippi e Louisiana (Charudattan; Dinoor, 2000).

O uso dos bioherbicidas ainda ocorre de forma restrita no mundo. Dentre os fatores que contribuem para a baixa adoção desses produtos, pode-se citar: a importância das plantas-alvo, elevada especificidade dos produtos, dificuldades técnicas na estabilidade da virulência dos agentes, produção massal, formulação e tecnologias de aplicação apropriadas para os agentes biológicos e dificuldades no processo de registro dos produtos (Tebeest, 1992). Dessa forma, existem obstáculos que devem ser superados no desenvolvimento dos bioherbicidas visando aumentar a eficiência no campo, tais como: desenvolvimento de formulações adequadas, consequentemente diminuindo o volume de calda e as doses dos agentes de biocontrole necessárias para um controle satisfatório da planta daninha alvo, reduzindo potencialmente o custo do bioherbicida; diminuir a dependência de muitas horas do molhamento foliar, necessários à infecção e à proteção dos propágulos fúngicos contra a radiação UV (ultravioleta), com a utilização de



¹Letras idênticas não diferem pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05).

²Letras idênticas não diferem pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05).

Figura 2. Densidade (A) e estatura (B) de plantas daninhas em função da cobertura de inverno antecedente.

Fonte: Paula et al. (2011).

adjuvantes específicos adicionados a calda; investir em tecnologia de aplicação de forma a otimizar o desempenho dos fungos sobre as plantas daninhas alvo; buscar a integração de produtos biológicos com herbicidas químicos ou outro sistema de manejo visando aumentar o espectro de controle de espécies de plantas daninhas (Vieira et al., 2018)

Para que um bioherbicida seja utilizado no controle de plantas daninhas, ele deve ser fácil de produzir e armazenar, de baixo custo, confiável, resultar em altos níveis de controle, ter efeito previsível e ser seguro para o ambiente (Tebeest, 1992).

Estratégia de controle aumentativa

A estratégia aumentativa tem sido implementada com insetos fitófagos e, principalmente, com fungos fitopatogênicos de difícil produção em larga escala (Tessmann, 2011). Esses agentes de controle são aplicados periodicamente somente em partes das áreas em que se pretende obter o controle. Essa estratégia possui características clássicas, como a ocupação de grande área após aplicação e, também, semelhanças com a inundativa devido a necessidade de várias liberações.

Procura-se anualmente, manter a fonte de inóculo no ambiente, por meio da liberação de inimigos naturais endêmicos que causaram epidemia da doença na estação de cultivo anterior. Essa estratégia foi

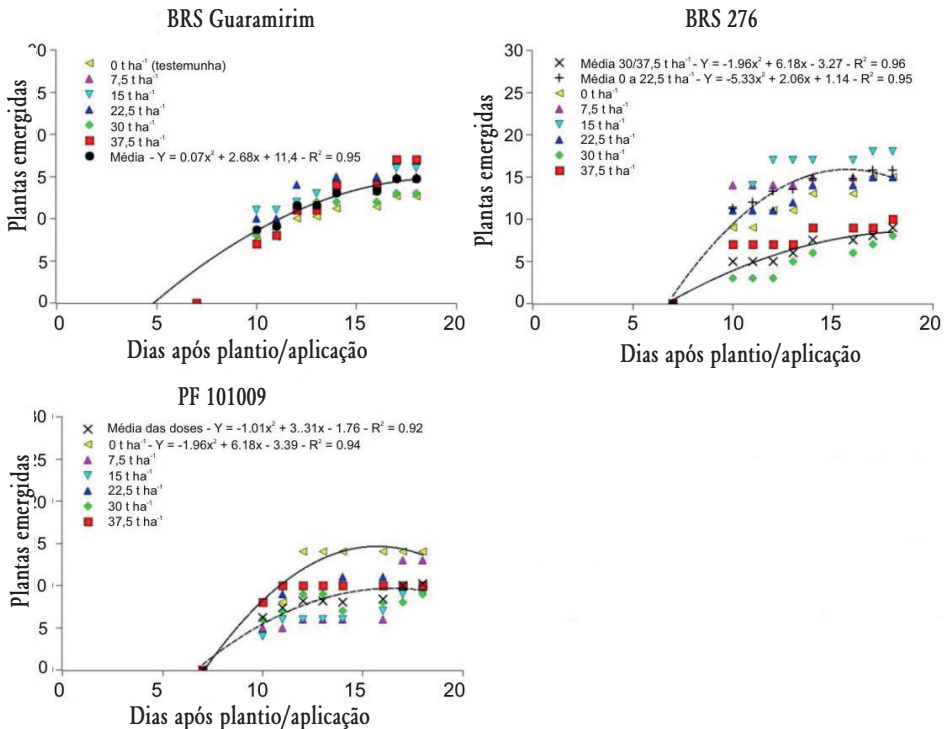


Figura 3. Curva de evolução da emergência de plantas de capim-amargoso, em dias após semeadura, em função de genótipos e volume de palha de trigo.

Fonte: Concenção et al. (2018).

utilizada para o controle de tiririca (*Cyperus rotundus* e *C. esculentus*) com a ferrugem, que se desenvolve naturalmente no campo e liberação anuais de esporos do fungo, na primavera, que causam inibição do florescimento e da formação de tubérculos da planta (Phatak et al., 1987). O fungo é capaz de se dispersar rapidamente sobre a região, provocando uma epidemia durante a estação de cultivo. Em 1993 o bioherbicida Dr. Biosedge, formulado com uredosporos do fungo *Puccinia caniculata* foi registrado nos Estados Unidos para o controle da tiririca amarela ou tiriricão (*C. esculentus*), porém o maior problema na utilização desse fungo como bioherbicida tem sido a produção de esporos em larga escala, uma vez que esse é um organismo biotrófico (Tebeest et al. 1996).

Alelopatia

Quando o efeito inibitório de uma planta sobre outra com a qual convive é muito grande para ser considerado como resultado de simples competição, estabelece-se o amensalismo. O principal mecanismo do amensalismo é a alelopatia (Pires; Oliveira, 2011), definida como qualquer efeito causado por substâncias químicas ou metabólitos secundários, que influenciam o desenvolvimento de outros indivíduos, atuando de forma direta ou indireta, sendo prejudicial ao seu crescimento e desenvolvimento. Os principais grupos de substâncias com características alelopáticas são apresentados na Figura 1.

A diferença primordial entre o processo competitivo e a alelopatia é que o primeiro implica na remoção do ambiente, pelo competidor, de fatores de crescimento como luz, água, gás carbônico e nutrientes; a alelopatia, por outro lado, implica na introdução de substâncias químicas no ambiente, pelo competidor, com prejuízos às demais espécies (Silva et al., 2007). Três pontos importantes devem ser considerados quando do uso de plantas com características alelopáticas para a supressão de plantas daninhas: a especificidade; a variação no nível do efeito; a duração do efeito.

A especificidade indica o grau de suscetibilidade da espécie-alvo às substâncias produzidas pela planta com características alelopáticas. É evidente que nem todas as plantas em uma comunidade são afetadas pelos compostos exsudados por uma determinada espécie com efeito alelopático. Essencialmente, deseja-se que a planta com efeito alelopático tenha impacto sobre a maior proporção possível das espécies daninhas ocorrentes na área, mas não sobre a espécie cultivada ou de interesse econômico. Assim, uma espécie com efeito alelopático que tenha efeito conhecido sobre qualquer espécie econômica cultivada na mesma área, seja em rotação, sucessão ou consórcio, não deve ser inserida no sistema de produção. Como exemplo, *Abutilon theophrasti* (folha-de-veludo) tem efeito alelopático sobre milho e soja (Bhowmik; Doll, 1982).

A variação no nível do efeito alelopático de determinada espécie é altamente afetada pelo nível dos recursos e condições do meio, além de características genéticas. O teor de luz, a disponibilidade de determinado nutriente, de água e a temperatura ambiente, são determinantes para o nível de compostos alelopáticos na planta (Pires; Oliveira, 2011). Wu et al. (2000) estudaram 453 linhagens de trigo oriundos de 50 países, concluindo que o nível de inibição do azevém por essas linhagens variou de 10% a 91% em função da origem do genótipo e das condições em que ele se desenvolvia.

A duração do efeito, por outro lado, pode determinar que a espécie com efeito alelopático deve ser implantada em sucessão à cultura de interesse para inibição das plantas daninhas, ou mesmo se ela deve ser consorciada. Por exemplo, o sorgo é famoso pela produção da sorgoleona, composto com potente

ação alelopática sobre diversas espécies vegetais (Correia et al., 2005). A meia-vida da sorgoleona no solo, no entanto gira em torno de 10 dias (Demuner et al., 2005). Nessa situação, essa substância seria efetiva na supressão de plantas daninhas por algo entre 20 e 30 dias, aproximadamente, dependendo da suscetibilidade natural da espécie à sorgoleona.

A liberação dos compostos com atividade alelopática no ambiente (aéreo ou radicular), se dá por três formas principais: lixiviação, por ação da água (chuva, orvalho, irrigação); a quantidade depende da espécie, idade da planta, condições edafoclimáticas; volatilização, como por exemplo a maioria dos terpenoides, que volatilizam da espécie de origem e são absorvidos por outras espécies e exsudação radicular, responsável pela liberação da maioria das substâncias com efeito alelopático para o meio radicular (Silva et al., 2007; Pires; Oliveira, 2011).

Aplicações práticas da alelopatia

É vastamente conhecido e documentado o efeito alelopático da cultura do trigo sobre espécies de buva no Brasil. Paula et al. (2011) relatam que na pré-semeadura da soja a infestação de buva foi reduzida de 172 plantas m² para 43 plantas m² devido, unicamente, ao cultivo de trigo no inverno anterior (Figura 2).

No Brasil, Fernandes et al. (2014) em levantamentos realizados com fungos, selecionaram e isolaram um organismo fitopatogênico (168-B) para o desenvolvimento de um novo bioherbicida. Os autores estudaram diferentes concentrações do propágulo do isolado 168-B e o efeito de aplicação do bioherbicida em estágios fenológicos distintos da planta daninha buva (*Conyza canadensis*).

Os resultados encontrados por Fernandes et al. (2014) foram o controle completo das plantas de buva em todos os estádios fenológicos, com aplicações nas concentrações de 106 e 107 propágulos m⁻² do patógeno. Os resultados demonstram o potencial do isolado fitopatogênico 168-B para o desenvolvimento de um bioherbicida para controle da buva (Fernandes et al., 2014), planta daninha essa com sérios problemas de controle por ser resistente ao herbicida glyphosate.

Concenço et al. (2018) estudaram o efeito de extratos de trigo na germinação do capim-amargoso, em função de dias após a semeadura. O trigo afetou a emergência de capim-amargoso em níveis variáveis, em função do genótipo (Figura 3), mas não foi capaz de reduzir o crescimento dessa espécie daninha após a emergência.

A cultivar BRS Guaramirim, por exemplo, não mostrou efeito supressor sobre capim amargoso, mesmo com dose de extrato equivalente a 37,5 t ha⁻¹ de palhada no campo, com média de oito plantas de capim-amargoso emergidas por unidade experimental, 10 dias após a aplicação dos tratamentos (Figura 3).

A cultivar BRS 276, por sua vez, ocasionou redução na percentagem de emergência do capim-amargoso, que foi dependente de dose. Dez dias após a aplicação, nove plantas de capim-amargoso haviam emergido na parcela testemunha; nos tratamentos com aplicação de extrato de trigo equivalente a até 22,5 t ha⁻¹ de palha de trigo; o mesmo número de plantas havia emergido 10 dias após a semeadura, mas houve inibição das germinações posteriores a essa data. Nas doses equivalentes a 30 t ha⁻¹ e 37,5 t ha⁻¹ de trigo, somente quatro plantas emergiram 10 dias após a semeadura (Figura 3).

Os autores relataram não ser viável a implantação de lavoura de trigo visando exclusivamente seu efeito supressor sobre o capim-amargoso para manejar altas infestações; porém, quando a lavoura é implantada com objetivos comerciais, promoverá supressão bastante significativa de buva, conforme relatado na literatura, e auxiliará na redução da infestação de capim-amargoso, entretanto em menores níveis que a inibição ocasionada sobre plantas de buva. Além disso, a inibição do capim-amargoso dependerá da cultivar de trigo adotada.

Considerações finais

Atualmente, a agricultura brasileira, especialmente a cadeia produtiva de grãos, tem sido criticada pela informação que o controle das plantas daninhas é realizado de maneira não condizente com aspectos técnicos, econômicos e principalmente ambientais. Dentro desse cenário, se faz extremamente importante a conscientização de se implantar sistemas de controle baseado nos princípios do manejo integrado de plantas daninhas (MIPD).

O resultado da adoção do MIPD resulta em um sistema com uso racional dos herbicidas, que é uma das questões centrais do tema de sustentabilidade na agricultura, o qual tem ganhado cada vez mais importância e relevância, inclusive para o público urbano.

Portanto, práticas e tecnologias que abordem sistemas de manejo de plantas daninhas envolvendo as diversas estratégias de controle, se mostram relevantes e com potencial de geração de impactos positivos para todo o setor produtivo. Nesse cenário, o controle biológico pode significar um avanço no manejo integrado de plantas daninhas, seja a partir da formulação de substâncias oriundas de microrganismos ou vegetais, de compostos alelopáticos ou mesmo de agentes naturais de controle, como insetos por exemplo.

A agricultura brasileira tem se mostrado muito dinâmica, especialmente em relação a adoção de tecnologias. Nesse sentido, o controle biológico de plantas daninhas se mostra com potencial de ser desenvolvido e implementado, sempre inserido no conceito de MIPD. Para tal, serão necessários esforços e a participação de toda a cadeia produtiva, desde a pesquisa até o produtor.

Referências

- ADEGAS, F. S. Manejo integrado de plantas daninhas. In: II Conferência Anual de Plantio Direto, 1997, Pato Branco, PR. **Anais...** Passo Fundo: Editora Aldeia Norte, p. 17-26, 1997.
- AGOSTINETTO, D.; VARGAS, L. **Resistência de Plantas Daninhas a Herbicidas no Brasil**. Pelotas: Pelotas: UFPel, 2014. 398 p.
- ALDRICH, R. J.; KREMER, R. J. **Principles in Weed Management**. Ames: Iowa State University Press, 1997. 455 p.
- BHOWMIK, P. C.; DOLL, J. D. Corn and soybean response to allelopathic effects of weed and crop residues. **Agronomy Journal**, v. 74, p. 601-606, 1982.
- BOYETCHKO, S. M. Principles of biological weed control by microorganisms. **HortScience**, v. 32, n. 2, p. 201-205, 1997.
- BOYETCHKO, S. M.; ROSSKOPF, E. N.; CAESAR, A. J.; CHARUDATTAN, R. Biological weed control with pathogens: search for candidates to applications. **Agriculture and Food Production**, v. 2, n. 2, p.239-266, 2002.
- CHARUDATTAN, R.; DINOOR, A. Biological control of weeds using plant pathogens: accomplishments and limitations. **Crop Protection**, v. 19, n. 8-10, p. 691-695, 2000.

- CHARUDATTAN, R.; PETERSEN, M. S.; HIEBERT, E. Use of an inoculation suspension comprising *Tobacco Mild Green Mosaic Virus* to induce lethal hypersensitive response in tropical soda apple plant. US. N. US2004162220-A1. 2004.
- CONCENÇO, G.; ITO, M. A.; MARQUES, R. F.; MELO, T. S.; SILVA, L. B. X.; LINHARES, L. T. **Trigo como supressor de infestação de capim-amargoso**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2018. 7p. (Comunicado Técnico 234/2018, CPAO).
- CORREIA, N. M.; CENTURION, M. A. P. C.; ALVES, P. L. C. A. Influência de extratos aquosos de sorgo sobre a germinação e desenvolvimento de plântulas de soja. **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p. 498-503, 2005.
- COSTA, N. V.; COSTA, A. C. P. R.; COELHO, E. M. P.; FERREIRA, S. D.; BARBOSA, J. A. Métodos de controle de plantas daninhas em sistemas orgânicos: breve revisão. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 17, n. 1, p. 25-44, 2018.
- DEMUNER, A. J.; BARBOSA, L. C. A.; CHINELATTO JR., L. S.; REIS, C.; SILVA, A. A. Sorção e persistência da sorgoleona em um Latossolo Vermelho-Amarelo. **Química Nova**, 2005, v. 28, n. 3, pp. 451-455. DOI: 10.1590/S0100-40422005000300016.
- EHLERS, E. **Agricultura sustentável: origens e perspectivas de um novo paradigma**. São Paulo: Terra, 1996. 178 p.
- ELLISON, C. A.; BARRETO, R. W. Prospects for the management of invasive alien weeds using co-evolved fungal pathogens: a Latin American Perspective. **Biological Invasions**, v. 6, p. 23-45, 2004.
- ELLISON, C. A.; PEREIRA, J. M.; THOMAS, S. E. BARRETO, R. W.; EVANS, H. Studies on the rust *Prospodium tuberculatum*, a new classical biological control agent released against the invasive alien weed *Lantana camara* in Australia, I: life-cycle and infection parameters. **Australasian Plant Pathology**, v. 35, p. 306-319, 2006.
- FERNANDES A. F.; COUTO A. M.; BARRETO R. W. Isolado 168-B, um potencial bioherbicida para controle da buva (*Conyza canadensis*): In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 29., 2014, Gramado/RS. **Anais...** Londrina: SBCPD, 2014. CD-ROM.
- FERRERO, A.; VIDOTTO, F.; COSTA, E.; ZANIN G.; CATIZONE, P. Storia della lotta alle malerbe. Torino: Società Italiana per la Ricerca sulla. **Flora Infestante**, 2007. 55 p.
- FOWLER, S. V.; BARRETO, R.; DODD, S.; MACEDO, D. M.; PAYNTER, Q.; MACEDO, J. H. P.; PEREIRA, O. L.; PETERSON, P.; SMITH, L.; WAIPARA, N.; WINKS, C. J.; FORRESTER, G. *Tradescantia fluminensis*, an exotic weed affecting native forest regeneration. **Biological Control**, v. 64, p. 323-329, 2013.
- KILLGORE, E. M.; SUGIYAMA, L. S.; BARRETO, R. W. Prospective biological control of *Miconia calvenscens* in Hawaii with a non-indigenous fungus *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. f.sp. *miconiae*. In: Regional Conference on *Miconia* Control, 1., 1997, **Proceedings...** Tahiti: [s.n.], 1997, p. 72-77.
- LAMAS, F. M. Agricultura brasileira - o momento pede reflexão. **Artigo na mídia**, Embrapa Agropecuária Oeste, Julho de 2013.
- MEYER, J. Y.; TAPUTUARAI, R.; KILLGORE, E. Dissemination and impacts of the fungal pathogen *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *miconiae* on the invasive alien tree *Miconia calvenscens*, in Tahiti (South Pacific) In International symposium on biological control of weeds, 12, 2007, La Grande Monte. **Proceedings...** CAB International, 2008. p. 594-600
- PAULA, J. M.; VARGAS, L.; AGOSTINETTO, D.; NOHATTO, M. A. Manejo de *Conyza bonariensis* resistente ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**, v. 29, n.1, p. 217-227, 2011.
- PIRES, N. M.; OLIVEIRA, V. R. Alelopatia. In: OLIVEIRA JR., R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. (Eds.). **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba: Onmipax, 2011. 362 p.
- PHATAK, S. C.; CALLAWAY, M. B.; VAVRINA, C. S. Biological control and its integration in weed management systems for purple and yellow nutsetge (*Cyperus rotundus* and *C. esculentus*). **Weed Technology**, v. 1 p. 84-91, 1987.
- SILVA, A. A.; FERREIRA, F. A.; FERREIRA, L. R.; SANTOS, J. B. Biologia de plantas daninhas. In: SILVA, A. A.; SILVA, J. F. (Eds.). **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2007a. 318 p.
- TEBEEST, D. O. Biological control of weeds with plant pathogens and microbial pesticides. **Advances in Agronomy**, v. 46, p. 115-137, 1996.
- TEBEEST, D. O.; YAND, X. B.; CISAR, C. R. The status of biological control of weeds with fungal pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, v. 30, p. 637-657, 1992.
- TESSMANN, D. J. Controle biológico: aplicações na área de ciência das plantas daninhas. In: OLIVEIRA JR., R.S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M.H. **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba: Onmipax, 2011. p. 79-94
- TIMMONS, F. L. A history of weed control in the United States and Canada. **Weed Science**, v. 18, n. 2, p. 294-307, 1970.
- VIEIRA, B. S.; BARRETO, R. W. NECHET, K. L. Controle biológico de plantas daninhas com fungos fitopatogênicos. In: OLIVEIRA, M.F.; BRIGHENTI, A. M. (Eds.). **Controle de plantas daninhas: métodos físico, mecânico, cultural, biológico e alelopatia**. Brasília, DF: EMBRAPA, 2018. cap. 6, pg. 115-136.

ZENNI, R. D.; ZILLER, S. R. An overview of invasive plants in Brazil. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 34, p. 431-446, 2011.

ZIMMERMANN, H.; BLOEM, S.; KLEIN, H. **Biology, history, threat, surveillance and control of the Cactus Moth, *Cactoblastis cactorum*.** 2004. Disponível em: <https://www-pub.iaea.org/MTCD/publications/PDF/faobsc_web.pdf> Acesso em: 14jul. 2021.

WU, H.; PRATLEY, J.; LEMERLE, D.; HAIG, T. Evaluation of seedling allelopathy in 453 wheat (*Triticum aestivum*) accessions against annual ryegrass (*Lolium rigidum*) by the equal-compartment-agar method. *Crop and Pasture Science*, v. 51, p. 937-944, 2000. DOI: 10.1071/AR00017.

Manejo de doenças fúngicas radiculares da soja

Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros

Guilherme Passerini Bavia

Claudine Dinali Santos Seixas

Introdução

Um dos grandes entraves presentes nos cultivos agrícolas anuais são as doenças causadas principalmente por patógenos habitantes de solo, como os nematoides e os fungos causadores de podridões radiculares.

As perdas em produtividade resultantes da infecção por doenças fúngicas radiculares podem variar muito de ano para ano e em um mesmo campo, em áreas onde a pressão de inóculo é maior que em outras. Em um levantamento de perdas causadas por doenças em soja no mundo que inclui o Brasil, antes da detecção da ferrugem-asiática da soja (*Phakopsora pachyrhizi*), Wrather et al. (1997) estimaram que as doenças radiculares respondiam por uma perda global de cerca de dois milhões de toneladas de grãos. Estimativas apontam que só para podridão de raízes causada pelas espécies de *Fusarium*, no ano de 2014, as perdas foram de 7,5 milhões de toneladas (Allen et al., 2017). Vale salientar que o cenário mudou muito desde esses levantamentos e essas perdas podem ser maiores que as apontadas.

Desde essa época não apenas as áreas de cultivo de soja aumentaram como a adoção da mecanização foi fundamental para proporcionar os aumentos de produtividade e redução de custos de produção. Por outro lado, a intensificação de circulação de máquinas contribuiu também para o aumento da compactação e disseminação do inóculo desses patógenos. Esse cenário, aliado ao fato da estreita gama de opções para sucessão e rotação do cultivo de soja, como com o milho, patógenos que infectam esses hospedeiros passaram a aumentar em importância nos últimos anos, como a podridão-de-carvão (*Macrophomina phaseolina*) e o tombamento (*Pythium ultimum*), patógenos que podem infectar tanto soja quanto milho.

No Brasil grandes perdas por doenças radiculares são também observadas para o fungo habitante do solo causador do mofo-branco da soja (*Sclerotinia sclerotiorum*) e os nematoides que serão abordados em capítulos específicos deste livro.

Os fungos causadores de podridões radiculares da soja

Quando se fala em fungos habitantes do solo, há aqueles nativos do solo, que estavam presentes mesmo antes da introdução da planta cultivada, aqueles introduzidos pelo maquinário e aqueles introduzidos por sementes. Independente da origem do fitopatógeno, sua prevalência e os danos ao cultivo vão estar diretamente relacionados a sua população e às condições favoráveis.

Em sua grande maioria esses patógenos causam doenças monocíclicas, ou seja, seu inóculo aumenta ao longo dos ciclos de cultivos sucessivos com plantas suscetíveis e as reduções em produtividade são graduais e, assim, passam muitas vezes despercebidas nos primeiros anos de infestação.

Portanto, o primeiro passo para o manejo de doenças fúngicas radiculares é a determinação de que fungo fitopatogênico está presente e quais os prejuízos que estão sendo causados. As doenças radiculares ocorrem em um padrão de distribuição em reboleira e, portanto, um mapa de colheita ou análise de imagens de satélite NDVI podem direcionar a amostragem para determinação da etiologia das perdas e dos danos obtidos na lavoura. Tanto as estratégias de amostragem quanto de quantificação do dano são áreas que estão sendo pesquisadas, mas ainda há muito o que se determinar para que um padrão próximo ao que se pratica com agricultura de precisão para fertilidade do solo possa ser extrapolado para o manejo de doenças radiculares. Infelizmente ainda não se tem validado um método que possa identificar com precisão todos os fungos ao mesmo tempo e a estratégia mais adequada é determinar os locais da propriedade onde está se observando redução em produtividade, identificar a causa e, caso se suspeite de etiologia fúngica, enviar para o laboratório de fitopatologia para determinar a espécie do agente etiológico. Note que para muitos desses fitopatógenos, a confirmação da identificação só pode ser dada por técnicas de biologia molecular como o PCR com *primers* específicos, como acontece para as espécies do complexo *Fusarium solani* (Cai et al., 2011) ou ainda para espécies do gênero *Macrophomina* (Santos et al., 2020).

Como o propósito do livro é dar um enfoque no manejo das doenças fúngicas radiculares com os bioinsumos, não abordaremos em detalhes todas as características de todas as doenças que os patógenos radiculares podem causar, mas em linhas gerais como os bioinsumos podem contribuir para o seu manejo considerando as características intrínsecas do parasitismo e ciclo de vida de cada espécie fúngica.

Uma primeira característica importante de se considerar quando abordamos o tema bioinsumos para manejo de doenças radiculares são as estruturas de resistência. Todos os patógenos radiculares formam algum tipo de estrutura de resistência que pode garantir sua sobrevivência na ausência de um substrato em que possa crescer. Essas estruturas podem ficar dormentes no solo até que se tenha uma fonte de nutriente que estimule sua germinação, os chamados patoestimulantes (Nelson, 2004). Vale salientar que essas substâncias já são secretadas desde a embebição de sementes, na primeira fase da germinação, antes mesmo da protrusão radicular e, com isso, patógenos como *Pythium ultimum* podem infectar a semente, antes mesmo da planta emergir (Zitnick-Anderson et al., 2015). Na Tabela 1 apresentamos os principais fungos fitopatogênicos habitantes do solo que infectam a soja, suas estruturas de resistência, gama de hospedeiras, sintomas e condições favoráveis para infecção. O conhecimento dessas particularidades é de suma importância para a determinação do bioinsumo mais adequado para o manejo, a forma e o momento ideal para sua aplicação, conforme mencionaremos ao longo deste capítulo.

Considerando que muitos dos patógenos radiculares infectam as plantas desde o momento da embebição (Nelson, 2004), o tratamento de sementes com fungicida químico tem sido postulado como a estratégia mais eficiente para o manejo dessas doenças e, de fato, tem ajudado muito não apenas na proteção da semente e plântula como também na erradicação de patógenos transmitidos pelas sementes. No entanto, ainda se conhece pouco da distribuição das espécies, suas populações e pressão de inóculo presentes nas áreas de produção e, portanto, um tratamento de sementes nem sempre resulta em eficiência para o alvo que se busca, como por exemplo para o manejo de *Pythium* (Broders et al., 2007).

Há diversos estudos para identificar fontes de resistência para *Pythium* sp. em soja (Lin et al., 2020) e essa pode representar uma estratégia de manejo importante no futuro, particularmente com as novas técnicas de engenharia de plantas. No momento, o manejo dessa doença se baseia no tratamento de sementes com fungicida. Tendo em vista que o patógeno infecta predominantemente a semente ou a plântula, o tratamento com fungicidas seria o suficiente para controlar a doença, mas essa não tem sido a realidade em todas as situações. A concentração inibitória (EC50) varia em até 10 vezes para diferentes populações de uma mesma espécie, em até duas vezes para uma mesma população de uma espécie quando a temperatura do solo é mais elevada (13 °C para 23 °C) e em até dez vezes de acordo com o produto, quando se compara azoxistrobina com metalaxil (Matthiesen; Robertson, 2021). Portanto, os bioinsumos representam uma estratégia importante para o manejo dessa doença.

O registro de bioinsumos no Brasil e seu uso para proteção de cultivos

O registro de produtos usados na agricultura é crucial para garantir sua aplicação prática, segura e legítima. O escopo do Programa Nacional de Bioinsumos aborda na produção vegetal:

- 1) Controle de pragas e doenças, que engloba biofungicidas, bioinseticidas, bioacaricidas e outros ativos biológicos;
- 2) Nutrição e fisiologia de plantas, com inoculantes, biofertilizantes, bioestimulantes e outros ativos biológicos;
- 3) Manejo de espécies vegetais, pelo desenvolvimento de práticas e tecnologias biológicas aplicadas ao manejo da cultura.

Importante destacar neste tópico, que irá abordar o papel dos insumos biológicos no manejo de doenças fúngicas radiculares da soja, que os organismos vivos que controlam a população de pragas e doenças, são classificados como os agentes de biocontrole. Em sua maioria, são ativos com baixa toxicidade e com a finalidade de manejar a praga alvo sem causar danos ao ambiente.

Os inoculantes, bioestimulantes e biofertilizantes, além das práticas de manejo de espécies vegetais, também estão ligados com a saúde do solo e das plantas. Logo, mesmo sem a finalidade de combater singularmente a praga alvo, essas tecnologias são estratégias para condicionar o ambiente de produção e estimular o metabolismo vegetal e, com isso, o tornar mais tolerante frente às adversidades do meio.

Há muito se pesquisa e publica sobre bioinsumos para proteção de plantas contra doenças radiculares, mas ainda são poucas dessas descobertas que se tornaram produtos comerciais. Como o livro se destina a todos os níveis de produção e tecnologia disponíveis, do pequeno ao grande produtor, apresentamos a seguir um panorama mais geral de diversas opções de bioinsumos que podem ser utilizados para o

Tabela 1. Características dos principais fungos causadores de podridões radiculares em soja no Brasil.

Fitopatógeno	Espécies	Sintomatologia	Estrutura de resistência	Gama de hospedeiras	Referências
<i>Pythium</i> spp.	<i>P. ultimum</i> var. <i>ultimum</i> <i>P. ultimum</i> var. <i>sporangiiferum</i> <i>P. kashmirense</i> <i>P. heterothallic</i> <i>P. irregulare</i> <i>P. attrantheridium</i> <i>P. dissotocum</i> <i>P. echinulatum</i> <i>P. graminicola</i> <i>P. helicoides</i> <i>P. inflatum</i> <i>P. silvaticum</i> <i>P. toluosum</i>	Tombamento de pré e pós emergência: apodrecimento da semente ou podridão aquosa na base do caule	oósporo	diversas plantas cultivadas tanto dicotiledôneas quanto monocotiledôneas	Hartman et al. (1999); Zitnick-Anderson; Nelson (2015); Broders et al. (2007)
<i>Macrophomina</i>	<i>M. phaseolina</i> <i>M. pseudophaseolina</i> <i>M. euphorbicola</i>	Podridão de carvão: mancha cinzenta na base do caule visível no momento do enchimento de grãos, associado ao sintoma reflexo de epinastia e murcha de folhas culminando com morte precoce de plantas	escleródio	diversas plantas cultivadas tanto dicotiledôneas quanto monocotiledôneas	Negreiros et al. (2019); Santos et al. (2020)
<i>Fusarium solani</i> species complex	<i>F. brasiliense</i> <i>F. tucumaniae</i> <i>F. cuneirostrum</i> <i>F. paranaensis</i>	Tombamento de plantas pela podridão na região do caule que apresenta mancha vermelha (podridão vermelha) e sintoma reflexo de folha do terço inferior com sintoma de clorose e necrose interinterval (carijó). Algumas espécies podem causar o sintoma de morte súbita, com murcha e morte de plantas antes do enchimento de grãos. As infecções acontecem no início do desenvolvimento de plantas, mas os sintomas reflexos só aparecem a partir do florescimento	clamidósporo	leguminosas, principalmente soja e feijão	Roy et al. (1997) Scandiani et al. (2012); Aoki et al. (2005)
<i>Fusarium oxysporum</i> species complex	Grupos de compatibilidade vegetativa (VCG) e sexual (mating populations) que diferem em virulência	Podridão de raízes e bloqueio do fluxo de seiva bruta em função da colonização que resulta em murcha de plantas mais usualmente observada a partir do florescimento. O patógeno pode ser transmitido por semente e as infecções acontecem desde os primeiros estádios de desenvolvimento da plântula	clamidósporo	soja	Ellis et al. (2014); Lanubile et al. (2016)
<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>R. solani</i> - diversos grupos de anastomose	Lesão deprimida marrom na região do colo que pode se tornar uma incisão anelar e levar ao tombamento	escleródio	várias dicotiledôneas, grupo de anastomose (AG) está relacionado a gama de hospedeiras	Ajayi-Oyetunde; Bradley (2018)
<i>Athelia</i>	<i>Athelia rolfsii</i> (syn. <i>Sclerotium rolfsii</i>)	Murcha de plantas e associação de micélio branco e escleródios esféricos marrons na base do caule. Os sintomas são observados principalmente após o florescimento, mas as infecções podem acontecer a qualquer momento durante o ciclo de desenvolvimento do patógeno	escleródio	dicotiledôneas de forma geral	Iqbal et al. (2017)

manejo de doenças radiculares de etiologia fúngica. Note que nem todas as soluções apresentadas foram validadas para a soja e, mesmo com o registro de produtos biológicos por alvo, há de ser feito o teste antes de incorporar um determinado bioinsumo no manejo de doenças radiculares da soja.

Os bioinsumos para a proteção de plantas no manejo de doenças radiculares

Em ambientes tropicais, os danos econômicos com doenças radiculares são mais acentuados do que em ambientes temperados. Visto que as condições ambientais favorecem o cultivo continuado de plantas hospedeiras no sistema de produção, além das menores flutuações climáticas, o que causa pouco impacto na população exponencial dos causadores de doenças. Não podemos nos esquecer dos solos com baixo teor de matéria orgânica e baixa diversidade biológica, que facilitam o desenvolvimento de patógenos radiculares e as doenças por eles causadas (Michereff et al., 2005).

Entre os patógenos radiculares estão os fungos, que representam a maior classe, os oomicetos, as bactérias e os nematoides. Neste capítulo, em específico, serão abordados os fungos e oomicetos que causam doenças no sistema radicular da cultura da soja. Vale ressaltar, ainda, que todos são espécies que passam a maior parte do seu ciclo de vida no solo, infectam raízes e possuem capacidade de sobrevivência saprofítica, mesmo na ausência da planta hospedeira, obtendo seus nutrientes a partir de tecidos mortos e/ou em decomposição (Hillocks; Waller, 1997).

Com elevado grau de dificuldade de controle, devido à alta especificidade desses patógenos com o seu hospedeiro, as doenças do sistema radicular resultam de um solo desequilibrado, geralmente, com elevada simplicidade ecológica, baixa diversidade biológica e baixo potencial de resiliência (Jenkins; Jain, 2010).

Dentre as formas de manejo, o controle biológico de doenças radiculares tem ganhado espaço, a classe de produtos comerciais que tem demonstrado potencial para seu manejo são os biofungicidas e com isto o crescimento desse mercado só aumenta todos os anos em número de empresas e produtos disponíveis. Estes produtos eram constituídos exclusivamente de um único microrganismo, mas hoje se tem vários produtos compostos de misturas de organismos, uma maior caracterização dos metabólitos por eles produzidos, mecanismos de ação e compatibilidades com outros defensivos. Estes produtos são introduzidos nos sistemas de produção por meio de inoculação e/ou inundação.

Nesse cenário, a colonização inadequada da espermosfera e rizosfera podem prejudicar sucesso dessa tecnologia. As ciências-ômicas, que permitem analisar genes, proteínas e metabólitos, estão contribuindo com o avanço acelerado das ferramentas biológicas no campo, desde a seleção ao controle de qualidade (Bettiol et al., 2021). Já que permitem uma triagem mais rápida de populações microbianas, com o objetivo de identificar cepas com múltiplos atributos funcionais para a supressão de patógenos.

Estratégias para fortalecer e aproveitar o potencial do microbioma nativo de solos agrícolas têm sido amplamente adotadas pelos microbiologistas e fitopatologistas. A construção e o gerenciamento de solos supressivos inviabilizam o estabelecimento ou a persistência do patógeno no sistema e, mesmo que ele persista no solo, a doença torna-se progressivamente menos severa e os bioinsumos podem contribuir para a construção e manutenção dessa supressividade, conforme apontado por Hoitink e Boehm (1999).

Existem diversas estratégias de manejo de doenças para a cultura da soja, geridas por diferentes tipos de patógenos, morfologia, tipo de genoma e várias outras características etiológicas. As estratégias

de manejo de doenças incluem sistemas naturais de defesa de plantas, fungicidas, manejos culturais e resistência genética. Algumas dessas medidas são altamente eficazes para inibir patógenos, porém também constituem riscos à saúde e ao ambiente. Nesse cenário, há necessidade de técnicas alternativas de controle de doenças que integrem as questões de segurança alimentar, qualidade ambiental e resistência a pesticidas.

Estratégias com o uso de diferentes tipos de bioinsumos, como agentes de biocontrole, bactérias promotoras de crescimento e biofertilizantes têm sido utilizados como alternativas aos fungicidas. Este capítulo explora o papel dos bioinsumos no manejo de doenças da soja, além da sua contribuição para o aumento da produtividade e qualidade da cultura.

Agentes de biocontrole

Os agentes de biocontrole são microrganismos antagonistas com potencial de interferir na sobrevivência ou crescimento dos patógenos. Os principais microrganismos para o controle biológico de doenças são os fungos e as bactérias. Os mecanismos de interações antagônicas são divididos em antibiose, indução de resistência, parasitismo, predação, competição e promoção de crescimento.

Os fungos classificados nessa dimensão, tem como seu principal representante o grupo dos ascomicetos, que podem controlar outros fungos, bactérias e nematoides. Dentre os mais estudados, está o gênero *Trichoderma*, que são fungos habitantes de solo que apresentam diversos mecanismos de controle, principalmente contra patógenos radiculares, além do efeito de promoção de crescimento. Diversas espécies são estudadas para o controle de fungos radiculares, como *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum*, *Trichoderma virens*, *Trichoderma viride*, entre outros.

Os principais alvos são os fungos causadores de podridão de raízes, de tombamento de plantas (*damping-off*) e podridão de haste. Logo, os gêneros de *Macrophomina*, *Fusarium* e *Rhizoctonia* são controlados por espécies de *Trichoderma*.

No entanto, um dos principais exemplos de sucesso na soja, é o controle biológico do mofo-branco, causado por *Sclerotinia sclerotiorum*, patógeno de difícil controle devido sua capacidade de formar escleródios e por possuir uma ampla gama de hospedeiros. Assim, um dos principais mecanismos de ação do *Trichoderma* é o parasitismo do escleródio, que inviabiliza ou reduz a germinação carpogênica e miceliogênica e afeta drasticamente o potencial do inóculo. Adicionalmente, o efeito do *Trichoderma* no controle de *Rhizoctonia solani* é conhecido há muito tempo, sua capacidade de parasitar e destruir o conteúdo citoplasmático do patógeno é documentado desde 1932 (Weindling, 1932).

Metabólitos secundários, como terpenos, e as enzimas degradadoras de parede celular produzidos por cepas de *Trichoderma*, têm demonstrado alta eficácia na inibição da germinação dos esporos, crescimento de hifas e desenvolvimento das estruturas de resistência como escleródios e clamidósporos de diversos patógenos, entre eles *Macrophomina*, *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Phoma* etc (Monte et al., 2019).

Além disso, o *Trichoderma* é um excelente competidor por recursos nutricionais nos solos, o que reduz a quantidade de nutrientes, oxigênio e espaço físico para agentes fitopatogênicos. Através da sua alta interação com as plantas pode auxiliar no aumento da atividade das enzimas antioxidantes e reduzir os níveis de espécies reativas de oxigênio, que são prejudiciais as plantas (Mastouri et al., 2012). Além disso, já é bem documentado a indução de resistência sistêmica nas plantas ativada por espécies de *Trichoderma*.

Já para as bactérias, os principais gêneros que atuam como antagonistas são *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Pasteuria* e *Rhizobium*. Para o controle de doenças radiculares o *Bacillus* representa o gênero mais estudado e aplicado. Com diversos mecanismos de ação e facilidade de produção, se tornou o principal ativo biológico dos produtos registrados para uso comercial no Brasil. Senthilkumar et al, (2009) utilizando uma cepa de *Bacillus* spp. para controle de patógenos causadores de podridão radicular da cultura da soja, demonstrou que a estirpe foi capaz de inibir o crescimento de *Rhizoctonia bataticola*, *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium udum* e *Sclerotium rolfsii*, além de promover o crescimento das plantas e elevar a taxa de germinação. Diversos resultados positivos são relatados na literatura com *Bacillus* spp. e *Pseudomonas* spp. no controle de vários patógenos causadores de damping-off e podridões de raízes, (Berg, 2009; Choudhary; Johri, 2009), entre eles *Fusarium oxysporum* (Xu et al., 2020) e *Rhizoctonia solani* (Peng et al., 2014).

O uso consorciado de agentes de controle biológico de doenças deve ser pensado para aumentar a versatilidade, a capacidade de sobrevivência e os mecanismos de ação para controle de patógenos radiculares. Entre os desafios para o consórcio de microrganismos está a compatibilidade biológica, campo com enorme potencial prático que deve avançar amplamente nos próximos anos.

Por fim, a introdução dos bioinsumos a base de agentes de biocontrole podem auxiliar na formação de solos supressivos, solos que inviabilizam o estabelecimento de fitopatógenos que podem causar danos a nível econômico. Diversos mecanismos de ação dos microrganismos estão envolvidos na supressão de patógenos nos solos supressivos, entre eles: parasitismo, competição por sítio de infecção e por nutrientes, produção de metabólitos secundários e indução de resistência sistêmica.

Biofertilizantes

Entre os biofertilizantes, conforme a legislação brasileira, estão classificados os aminoácidos, os extratos de algas e vegetais e as substâncias húmicas. Neste tópico, vamos abordar como essas substâncias podem auxiliar na proteção de plantas contra patógenos, principalmente através das modulações benéficas e estímulos que podem provocar na comunidade de microrganismos.

Os efeitos bioestimulantes mais importantes das substâncias húmicas incluem a melhoria do sistema radicular, com o aumento da troca catiônica e a capacidade de retenção de água, além da disponibilização de fósforo e proteção contra variados estresses ambientais. Os efeitos benéficos ocorrem devido às interações resultantes entre a matéria orgânica do solo, os microrganismos e as raízes das plantas (Canellas; Olivares, 2014; Du Jardin, 2015; Conselvan et al., 2017; Shahabivand et al., 2018).

As substâncias húmicas afetam o metabolismo vegetal primário, o complexo enzimático relacionado aos processos celulares, o metabolismo secundário, a agregação e a estrutura do solo, a capacidade de troca catiônica e de retenção de água, a biodisponibilidade de nutrientes imóveis, como o fósforo, e a diminuição da toxicidade por alumínio e metais pesados.

O efeito das substâncias húmicas pode estimular o crescimento de plantas e ativar rotas bioquímicas que podem resultar na proteção da cultura, amenizando vários estresses, incluindo a proliferação de doenças. Diversos trabalhos comprovam que as substâncias húmicas aumentam a

atividade das principais enzimas antioxidantes, responsáveis por neutralizar as respostas ao estresse vegetal (Quaggiotti et al., 2004; Schiavon et al., 2010).

Além disso, foi relatado que a aplicação de substâncias húmicas interfere na comunidade microbiana do solo (Derkowska et al., 2015). Essa interação entre planta e comunidade microbiana pode melhorar os processos fisiológicos envolvidos na defesa contra patógenos e mineralização e solubilização de nutrientes (Canellas; Olivares, 2014).

Existem vários mecanismos ou modos de ação envolvidos na supressão de patógenos que incluem antibiose, competição por substrato, competição por locais de infecção na raiz e resistência sistêmica induzida (Dordas, 2008). Embora as substâncias húmicas sejam distintas, seus efeitos podem contribuir para o aumento da resiliência do ambiente de produção, seja pela alteração da comunidade microbiana ou por estímulos para o crescimento e desenvolvimento saudável das plantas.

O uso de extratos de plantas, por seus efeitos bioestimulantes na agricultura, tem ganhado atenção no cenário atual, com isso uma lista crescente de espécies com essas propriedades tem sido documentada (Kruse et al., 2000). Extratos usados com frequência incluem algas (algas marinhas), *Moringa oleifera*, água de sorgo e água de amora (Du Jardim, 2015; Machado et al., 2019; O’Keeffe et al., 2019; Khan et al., 2020). As espécies botânicas e de algas contêm importantes compostos bioativos estimuladores do crescimento das plantas, responsáveis pela sua eficácia como bioestimulantes. Esses compostos incluem carboidratos, minerais, hormônios de crescimento, como citocininas e auxinas, betaínas, taninos, flavonoides, alcaloides e saponinas (Persaud et al., 2019).

Os extratos de plantas podem suprimir os microrganismos, através dos seus compostos bioativos sintetizados no metabolismo secundário das plantas, inibindo o crescimento e desenvolvimento dos patógenos responsáveis pelo desenvolvimento da doença. (Akula; Ravishankar, 2011).

Os extratos de algas marinhas possuem dois modos de ação, são bioestimulantes, como discutido acima, que aumentam o crescimento e a produtividade das culturas, mas também contribuem diretamente para a saúde do solo (Khan et al., 2009). No solo, podem permitir um aumento nos minerais disponíveis para as plantas e aumento da aeração do solo e capacidade de retenção de água (Illera-Vives et al., 2015). Logo, sua presença na rizosfera pode favorecer a atividade de microrganismos antagonísticos, os quais podem favorecer o controle de patógenos (Alam et al., 2013, 2014), visto que aplicação de extratos selecionados de algas marinhas diretamente no solo alterou a população microbiana da rizosfera. Além disso, é relatado que a aplicação das algas Induz a nodulação de rizóbio por meio da regulação do processo de sinalização (Khan et al., 2013), característica que também pode contribuir para a proteção radicular da cultura.

Já os aminoácidos são moléculas orgânicas que podem desempenhar papéis diferentes nas plantas, como a regulação da captação de nitrogênio (Miller et al., 2007), o desenvolvimento da raiz (Walch-Liu; Forde, 2007; Weiland et al., 2015) e aumento da atividade do metabolismo antioxidante (Hildebrandt et al., 2015; Weiland et al., 2015). Além disso, suas aplicações no solo também podem aumentar a atividade biológica (Souri, 2015).

Com as novas cultivares de soja demonstrando maior potencial produtivo, é importante o uso de biofertilizantes que possam auxiliar a planta a expressar seu máximo potencial genético. É notório que a severidade de doenças pode ser reduzida pelo aumento da tolerância das plantas aos estresses abióticos

e resistência aos estresses bióticos, seja através do estímulo fisiológico ou mudanças estruturais na comunidade microbiana do solo que essas substâncias podem causar.

Bactérias promotoras de crescimento

As bactérias promotoras de crescimento podem proteger diversas culturas, como cereais e leguminosas, da infecção de diferentes doenças causadas por vírus, fungos, bactérias e nematoides, bem como aquelas causadas por deficiências de nutrientes. Embora as bactérias promotoras de crescimento possam usar vários modos de ação no controle de patógenos de plantas, todo o processo pode ser resumido em dois mecanismos básicos, ou seja, direto e indireto (Glick, 1995; Gupta et al., 2015).

Os mecanismos de efeito direto sobre os patógenos vegetais incluem a produção de antibióticos como piocianina (Pierson; Thomashow, 1992), produção de sideróforos (O'Sullivan; O'Gara, 1992), síntese de cianeto de hidrogênio (Glick, 1995), enzimas que podem hidrolisar as paredes celulares de patógenos de plantas (Mauch et al., 1988), competição por locais de colonização e por nutrientes (O'Sullivan; O'Gara, 1992 ; Prasad et al., 2015), bem como a degradação dos fatores de patogenicidade de substâncias como toxinas e enzimas (Podile; Kishore, 2006; Prasad et al., 2015). Por outro lado, o efeito indireto inclui indução de resistência e promoção de crescimento (Glick, 1995).

As bactérias promotoras de crescimento são conhecidas por produzir uma série de compostos que possuem atividade antimicrobiana, incluindo antibióticos de amplo espectro, enzimas líticas, diferentes tipos de exotoxinas e bacteriocinas (Riley; Wertz, 2002). A produção de sideróforos é outro mecanismo comum por meio do qual os microrganismos previnem os efeitos nocivos dos fitopatógenos (Glick et al., 2010). As bactérias produzem pequenas moléculas quelantes de ferro conhecidas como sideróforos, que se ligam aos íons férricos e os removem do ambiente do solo, tornando-os indisponíveis para o patógeno, um tipo de estratégia indireta de promoção do crescimento vegetal (Persello-Cartieaux et al., 2003). No solo, a capacidade das bactérias de produzir sideróforos desempenha um papel importante na melhoria do desenvolvimento da planta.

A produção de antibióticos é outro mecanismo comum pelo qual as bactérias promotoras de crescimento realizam o processo de antagonismo contra os fitopatógenos (Gómez-Exposito et al., 2017). Esses antibióticos são compostos orgânicos de baixo peso molecular que matam ou reduzem o impacto dos patógenos radiculares (Whipps, 2001; Duffy et al., 2003). Uma atenção notória tem sido dada aos microrganismos capazes de produzir o antibiótico 2,4-diacetil-floroglucinol (2,4-DAPG), o qual é capaz de inibir vários tipos de fungos. *Pseudomonas* spp. fluorescentes caracteriza o principal grupo produtor, com capacidade de suprimir doenças radiculares. Alguns trabalhos mostraram que isolados de *Pseudomonas* foram capazes de suprimir fungos causadores de damping-off como *Pythium ultimum* (Fenton et al., 1992) e causadores de podridão radicular, como *Fusarium* (Duffy; Défago, 1997)

As rizobactérias como o *Bradyrhizobium japonicum* que é amplamente utilizado na cultura da soja para fixação biológica do nitrogênio, também pode reduzir com sucesso os sintomas de doenças radiculares. Diferentes mecanismos podem estar envolvidos na supressão de patógenos fúngicos por cepas de *Bradyrhizobium*. Esses mecanismos incluem produção de antibióticos (Chakraborty; Purkayasta, 1983), produção de sideróforo (Nambiar 1987; Guerinot et al., 1990; Omar; AbdAlla 1998), produção

de cianeto de hidrogênio (Antoun 1998), nodulação, promoção do crescimento da planta (Chakraborty; Purkayasta 1983; Siddiqui et al., 2004; Al-Ani et al., 2012) e indução de resistência (Gao et al., 2012). Importante ressaltar que o potencial de biocontrole é intrínseco à cepa considerada, tendo em vista que nem todos os isolados desta espécie desempenham potencial de biocontrole de doenças radiculares (Russiano, 2020). Além de *Rhizobium*, alguns gêneros como *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum* e *Agrobacterium* são conhecidos como rizobactérias que podem promover crescimento dos vegetais. Fica claro que as bactérias promotoras de crescimento podem ser potenciais antagonistas de fitopatógenos, além dos diversos mecanismos que possuem para auxiliar no desenvolvimento das plantas. É uma área de estudos com grande potencial, visto que ainda existem mecanismos por serem descobertos e potenciais de uso a serem construídos, particularmente quando se considera a sinergia entre os diferentes bioinsumos empregados.

Formas de aplicação disponíveis

A oportunidade para a utilização em larga escala dos bioinsumos está no uso combinado com práticas agrônômicas já estabelecidas nas lavouras, como no tratamento de sementes, no sulco de semeadura e/ou na aplicação em conjunto com fungicidas e/ou herbicidas desde que se atente para a compatibilidade, conforme mencionado no capítulo 27.

A semeadura oferece uma oportunidade de aplicação dos bioinsumos para todos os hectares semeados, por meio da aplicação no sulco e/ou no tratamento de sementes. Uma extensa revisão, com 126 ensaios e 380 tratamentos, realizada por Wozniak et al. (2020), que abordou a aplicação de bioestimulantes (quaisquer substâncias naturais ou microrganismos que melhorem o desempenho produtivo) mostraram que 60% das aplicações foram realizadas via pulverização foliar, 30% das aplicações via solo, raízes ou hidroponia e 10% no tratamento de sementes.

Para as doenças radiculares, o tratamento de sementes tem representado a melhor forma de garantir a sobrevivência e o estabelecimento do agente biológico empregado, visto que os exsudatos liberados na germinação da semente suportam o crescimento do microrganismo benéfico, que se desenvolve intimamente associado com as raízes.

No tratamento de sementes é importante levar em consideração a compatibilidade com os produtos químicos, dado que a semente de soja já é comercializada ao produtor com o tratamento com fungicida. Nas situações de incompatibilidade, no qual o princípio ativo químico pode comprometer as células microbianas, a opção mais simples e viável para contornar o problema é a aplicação separada dos produtos, na qual o bioproduto pode ser aplicado via sulco de plantio. Para essa prática o produtor necessita de equipamentos específicos e um maior volume de calda.

Estratégias para avaliação da qualidade da adoção dos bioinsumos no controle de doenças radiculares

Com o estabelecimento dos padrões para controle de qualidade estabelecidos pelo governo não apenas para produtos à base de microrganismos, mas também biofertilizantes, aumento da oferta e principalmente concorrência, temos hoje no mercado produtos com qualidade cada dia melhor, no que diz respeito a eficiência de controle para os diferentes alvos e vida de prateleira. De fato, muitas empresas

se preocupam com a embalagem para acondicionamento dos produtos, que mantêm a temperatura mais amena, transportam seus produtos em caminhões refrigerados e primam por esses mesmos cuidados de acondicionamento no distribuidor. No entanto, nem sempre esse mesmo cuidado acontece por parte do produtor em seu galpão de armazenamento e isso pode comprometer a qualidade dos produtos. Talvez a melhor analogia para se fazer com o produtor para convencê-lo da importância do acondicionamento de produtos biológicos em temperatura mais amena, seja com suas sementes. O produtor sabe bem que as sementes precisam ser acondicionadas em temperatura amena pois se trata de um organismo vivo. Pelo menos para os bioinsumos baseados em microrganismos vivos, essa analogia deve ser a mesma. De fato, muitos produtores já armazenam seus bioinsumos baseados em microrganismos na câmara refrigerada em que armazenam suas sementes e isso lhes garante produtos com maior manutenção de viabilidade.

Afinal, qual o controle de qualidade que devemos primar para um bioinsumo para manejo de doenças fúngicas radiculares? Hoje a viabilidade dos propágulos do microrganismo e a eficiência agrônômica para o alvo são as variáveis que podemos checar para a qualidade dos produtos. No âmbito da ciência podemos elencar algumas outras que retratam essa eficiência e que podem ser implementadas por laboratórios ou mesmo produtores para monitorar a eficiência dos produtos:

- 1) **Atividade de enzimas relacionadas ao parasitismo.** Hoje a quantificação da atividade de enzimas do solo está relacionada à sanidade do solo, são elas a arilsulfatase, beta-glucosidase e fosfatase ácida (Lopes et al., 2013). Além da ciclagem de nutrientes (enxofre, carbono e fósforo, respectivamente), pelo menos a beta-glucosidase está relacionada à atividade parasítica de microrganismos e redução da viabilidade de patógenos habitantes do solo (Janvier et al., 2007) e explica, por exemplo, a supressão a murcha de *Fusarium* em tomateiro (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*) (Borrero et al., 2004).
- 2) **Rizocompetência.** Tendo em vista que os patógenos habitantes do solo têm a semente em germinação e as raízes como principal porta de entrada para causar doença, a capacidade dos microrganismos benéficos em colonizar as raízes é fundamental para o sucesso do biocontrole, conforme descreve De Weert e Bloemberg (2007). Os primeiros organismos colonizadores das raízes são as bactérias, em função da rápida multiplicação e mais eficiente utilização dos nutrientes, elas localizam a planta hospedeira por meio dos exsudatos radiculares, aderem à superfície da raiz e secretam uma matriz polissacarídica que as envolve, os chamados biofilmes bacterianos. Essa colonização eficiente das raízes representa pelo menos quatro estratégias importantes de biocontrole: (i) proteção de raízes pelo depósito do biofilme bacteriano (Li et al., 2013), (ii) competição pelos nutrientes que serviriam tanto de quimiotactismo quanto alimento para os fitopatógenos (Yuan et al., 2018), (iii) saturação da solução do solo com moléculas com ação antimicrobiana (Chin-A-Woeng et al., 2000) e (iv) ativação de genes da planta envolvidos na defesa contra fitopatógenos, potencializando a proteção contra a infecção não apenas por patógenos radiculares mas até patógenos que infectam a parte aérea das plantas (Klopper et al., 1999).
- 3) **Parasitismo de estruturas de resistência.** Conforme mencionado acima neste capítulo, todos os patógenos radiculares formam algum tipo de estrutura de resistência que garante sobrevivência do microrganismo mesmo na ausência de qualquer planta hospedeira, substrato ou condições

ambientais adversas ao crescimento fúngico. Dentre as estruturas de resistência (Tabela 1), os escleródios são aquelas mais facilmente parasitadas e esse parasitismo está relacionado com a redução na severidade da doença. Pelo menos para *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina* e *Athelia rolfsii* que formam escleródios (Tabela 1), já foi relatado o potencial de agentes de biocontrole em seu parasitismo (Elad et al., 1980; Srivastava et al., 1996), mas nem sempre é demonstrado o potencial desse parasitismo na redução da severidade da doença que cada um causa em soja.

- 4) **Competição por substrato.** Além da competição pelos exsudatos radiculares, a competição pelos restos culturais também representa uma importante estratégia para o controle biológico de doenças radiculares (Katan et al., 2017). Por mais que esses patógenos formem estruturas de resistência, a colonização dos restos culturais representa uma multiplicação secundária e aumentos dos riscos de epidemia. Pode-se mensurar a capacidade de colonização dos restos culturais pelo agente de controle biológico como estratégia de prevenir a colonização pelo patógeno ou para reduzir sua esporulação quando o substrato já está colonizado pelo patógeno (Köhl et al., 1995). Nesse último caso, a relação parasítica não é tão importante quanto o crescimento rápido sobre o substrato (Köhl et al., 1997) mas é importante mencionar que esse deve ser um mecanismo de avaliação da eficiência do bioinsumo e não um método para selecionar o agente de biocontrole mais promissor (Köhl et al., 2020).
- 5) **Tolerância ou compensação de perdas.** A promoção de crescimento de plantas mediada por microrganismos representa também um mecanismo de controle biológico de doenças radiculares, tendo em vista que pode compensar as perdas proporcionadas pelos patógenos. O maior desenvolvimento de raízes, aumento da absorção de nutrientes, particularmente aqueles envolvidos na defesa de plantas contra os patógenos radiculares e aumento da tolerância a estresses abióticos são alguns dos exemplos que podem ser citados para a importância da participação da promoção de crescimento de plantas na proteção contra patógenos radiculares. Importante mencionar que este mecanismo não leva ao controle da doença e pode até levar a um aumento no potencial de inóculo ao longo do tempo. Seguindo neste cenário, em algum momento, a promoção de crescimento pode não superar as perdas e a adoção do bioinsumo ser, portanto, sem efeito.
- 6) **Homeostase microbiana.** Alguns conceitos de seletividade e interações multitróficas já são abordadas há muitos anos na Entomologia, mas só com o advento das técnicas de biologia molecular este tópico está sendo estudado e alguns serviços de análise de microbioma e interpretação já estão sendo propostos, como por exemplo para identificar o padrão microbiano associado ao *terroir* de vinhos (Belda et al., 2017). Quando se introduz um microrganismo e/ou uma molécula no solo pode-se ter muito mais que a ação direta desse bioinsumo sobre o patógeno. Além da supressão a fitopatógenos apresentados acima (itens 1-5), Berg et al. (2021) propuseram outros efeitos dos bioinsumos introduzido no solo com o microbioma nativo que resultam no maior desenvolvimento de plantas e/ou controle de doenças para os quais ainda não se têm ferramentas para mensuração em rotina, mas que podem representar métricas importantes a serem consideradas quando se mede a eficiência do bioinsumo para proteção de plantas não

apenas contra doenças radiculares causadas por fungos como as causadas por outros agentes fitopatogênicos e em outros nichos. A seguir detalhamos cada um desses mecanismos de ação propostos para os bioinsumos.

- (a) Desvio transitório do microbioma: quando se introduz um microrganismo ou molécula, há um aumento momentâneo do microrganismo introduzido, um benefício de redução da doença e, em seguida, a doença é reduzida e o microbioma nativo volta a colonizar o nicho.
- (b) Estabilização ou aumento da diversidade e uniformidade microbiana associada às plantas: com a introdução do bioinsumo, se cria um ambiente propício para colonização por outros microrganismos benéficos. Essa característica está relacionada tanto com a comunicação entre microrganismos (*quorum sensing*) quanto pela seletividade aos outros organismos.
- (c) Restabelecimento do microbioma benéfico após alteração induzida por fitopatógeno: os patógenos necrotróficos produzem moléculas com ação antimicrobiana para lhe garantir colonização exclusiva da planta, a introdução de bioinsumos que possam atuar na recolonização desse nicho, atuando por competição e/ou detoxificando as moléculas com ação antimicrobiana não apenas permitem a colonização do substrato pelo microrganismo introduzido como também reestabelece as condições para a colonização dos restos culturais pelo microbioma nativo.
- (d) Alterações direcionadas para comunidades microbianas que proporcionam benefícios às plantas: com a introdução do bioinsumo pode-se aumentar seletivamente a comunidade de microrganismos envolvidos no biocontrole como por exemplo a aplicação de quitina e o aumento seletivo da comunidade de microrganismos com ação quitinolítica e aumento da supressão de fungos fitopatogênicos habitantes do solo.

Portanto, os bioinsumos representam uma ferramenta fundamental para o manejo de doenças de plantas. Temos uma diversidade de produtos, há novos lançamentos a cada ano e o produtor está cada dia mais convencido de sua eficiência de controle.

Se por um lado hoje há uma diversidade de produtos disponíveis e com qualidade cada vez maior, ainda se sabe pouco sobre a extensão dos danos das doenças radiculares. O foco maior tem sido dado aos nematoides mas ainda pouca atenção tem sido dada aos fungos. Um conhecimento sobre a etiologia das perdas e sua quantificação deve ser o primeiro passo para busca da solução correta, sua introdução no momento adequado e acompanhamento da sua performance ao longo do tempo.

De forma geral, para o manejo das doenças radiculares, raramente uma única estratégia deve ser adotada, mas tantas quando possíveis para garantir o sucesso da produção.

Para doenças foliares da soja o produtor já está convencido da importância de combinar estratégias, este manejo integrado tem que fazer parte também das doenças radiculares, o que pode inclusive beneficiar o manejo de doenças da parte aérea como redução do inóculo de patógenos necrotróficos associados aos restos culturais e auxílio na proteção com a ativação da resistência sistêmica de plantas.

Referências

- AJAYI-OYETUNDE, O. O.; BRADLEY, C. A. *Rhizoctonia solani*: taxonomy, population biology and management of rhizoctonia seedling disease of soybean. *Plant Pathology*, v. 67, n. 1, p. 3-17, 2018.
- AKULA, R.; RAVISHANKAR, G. A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior*, v. 6, n. 11, p. 1720-1731, 2011.
- AL-ANI, R. A.; ADHAB, M. A.; MAHDI, M. H.; ABOOD, H. M. *Rhizobium japonicum* as a biocontrol agent of soybean root rot disease caused by *Fusarium solani* and *Macrophomina phaseolina*. *Plant Protection Science*, v. 48, n. 4, p. 149-155, 2012.
- ALAM, M. Z.; BRAUN, G.; NORRIE, J.; HODGES, D. M. Effect of Ascophyllum extract application on plant growth, fruit yield and soil microbial communities of strawberry. *Canadian Journal of Plant Science*, v. 93, n. 1, p. 23-36, 2013.
- ALLEN, T. W.; BRADLEY, C. A.; SISSON, A. J.; BYAMUKAMA, E.; CHILVERS, M. I.; COKER, C. M.; COLLINS A. A.; DAMICONE, J. P.; DORRANCE, A. E.; DUFAULT, N. S.; ESKER, P. D.; FASKE, T. R.; GIESLER, L. J.; GRZYBAUSKAS, A. P.; HERSHMAN, D. E.; HOLLIER, C. A.; ISAKETT, T.; JARDINE, D. J.; KELLY, H. M.; KEMERAIT, R. C.; KLECZEWSKI, N. M.; KOENNING, S. R.; KURLE, J. E.; MALVICK, D. K.; MARKELL, S. G.; MEHL, H. L.; MUELLER, D. S.; MUELLER, J. D.; MULROONEY, R. P.; NELSON, B. D.; NEWMAN, M. A.; OSBORNE, L.; OVERSTREET, C.; PADGETT, G. B.; PHUPPS, P. M.; PRICE, P. P.; SIKORA, E. J.; SMITH, D. L.; SPURLOCK, T. N.; TANDE, C. A.; TENUTA, A. U.; WISE, K. A.; WRATHER, J. A. Soybean yield loss estimates due to diseases in the United States and Ontario, Canada, from 2010 to 2014. *Plant Health Progress*, v. 18, n. 1, p. 19-27, 2017.
- AOKI, T.; O'DONNELL, K.; SCANDIANI, M. M. Sudden death syndrome of soybean in South America is caused by four species of *Fusarium*: *Fusarium brasiliense* sp. nov., *F. cuneirostrum* sp. nov., *F. tucumaniae*, and *F. virguliforme*. *Mycoscience*, v. 46, n. 3, p. 162-183, 2005.
- BELDA, I.; ZARRAONAINDIA, I.; PERISIN, M.; PALACIOS, A.; ACEDO, A. Corrigendum: From vineyard soil to wine fermentation: Microbiome approximations to explain the “terroir” concept. *Frontiers in Microbiology*, v. 8, p. 1065, 2017.
- BERG, G.; KUSSTATSCHER, P.; ABDELFAHATTA, A.; CERNAVA, T.; SMALLA, K. Microbiome modulation—toward a better understanding of plant microbiome response to microbial inoculants. *Frontiers in Microbiology*, v. 12, p. 803, 2021.
- BERG, G. Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. *Applied microbiology and biotechnology*, v. 84, n. 1, p. 11-18, 2009.
- BORRERO, C.; TRILLAS, M. I.; ORDOVÁS, J.; TELLO, J. C.; AVILÉS, M. Predictive factors for the suppression of *Fusarium* wilt of tomato in plant growth media. *Phytopathology*, v. 94, n. 10, p. 1094-1101, 2004.
- BRODERS, K. D.; LIPPS, P. E.; PAUL, P. A.; DORRANCE, A. E. Characterization of *Pythium* spp. associated with corn and soybean seed and seedling disease in Ohio. *Plant Disease*, v. 91, n. 6, p. 727-735, 2007.
- CAI, L.; GIRAUD, T.; ZHANG, N.; BEGEROW, D.; CAI, G.; SHIVAS, R. G. The evolution of species concepts and species recognition criteria in plant pathogenic fungi. *Fungal Diversity*, v. 50, n. 1, p. 121-133, 2011.
- CANELLAS, L. P.; OLIVARES, F. L. Physiological responses to humic substances as plant growth promoter. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, v. 1, n. 1, p. 1-11, 2014.
- CHAKRABORTY, U.; PURKAYASTHA, R. P. Role of rhizobitoxine in protecting soybean roots from *Macrophomina phaseolina* infection. *Canadian Journal of Microbiology*, v. 30, n. 3, p. 285-289, 1983.
- CHIN-A-WOENG, T. F.; BLOEMBERG, G. V.; MULDER, I. H.; DEKKERS, L. C.; LUGTENBERG, B. J. Root colonization by phenazine-1-carboxamide-producing bacterium *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 is essential for biocontrol of tomato foot and root rot. *Molecular plant-microbe interactions*, v. 13, n. 12, p. 1340-1345, 2000.
- CHOUDHARY, D. K.; JOHRI, B. N. Interactions of *Bacillus* spp. and plants with special reference to induced systemic resistance (ISR). *Microbiological Research*, v. 164, n. 5, p. 493-513, 2009.
- CONSELVAN, G. B.; PIZZEGHELLO, D.; FRANCIOSO, O.; DI FOGGIA, M.; NARDI, S.; CARLETTI, P. Biostimulant activity of humic substances extracted from leonardites. *Plant and Soil*, v. 420, n. 1, p. 119-134, 2017.
- DE WEERT, S.; BLOEMBERG, G. V. Rhizosphere competence and the role of root colonization in biocontrol. In: GNANAMANICKAM, S. S. *Plant-associated bacteria*. Dordrecht: Springer, 2007. p. 317-333.
- DUFFY, B. K.; DÉFAGO, G. Zinc improves biocontrol of *Fusarium* crown and root rot of tomato by *Pseudomonas fluorescens* and represses the production of pathogen metabolites inhibitory to bacterial antibiotic biosynthesis. *Phytopathology*, v. 87, n. 12, p. 1250-1257, 1997.
- DUFFY, B.; SCHOUTEN, A.; RAAIJMAKERS, J. M. Pathogen self-defense: mechanisms to counteract microbial antagonism. *Annual review of phytopathology*, v. 41, n. 1, p. 501-538, 2003.

- DU JARDIN, P. Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, v. 196, p. 3-14, 2015.
- ELAD, Y.; CHET, I.; KATAN, J. *Trichoderma harzianum*: a biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, v. 70, n. 2, p. 119-121, 1980.
- ELLIS, M. L.; JIMENEZ, D. R. C.; LEANDRO, L. F.; MUNKVOLD, G. P. Genotypic and phenotypic characterization of fungi in the *Fusarium oxysporum* species complex from soybean roots. *Phytopathology*, v. 104, n. 12, p. 1329-1339, 2014.
- FENTON, A. M.; STEPHENS, P. M.; CROWLEY, J.; O'CALLAGHAN, M.; O'GARA, F. Exploitation of gene (s) involved in 2, 4-diacetylphloroglucinol biosynthesis to confer a new biocontrol capability to a *Pseudomonas* strain. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 58, n. 12, p. 3873-3878, 1992.
- GAO, X.; LU, X.; WU, M.; ZHANG, H.; PAN, R.; TIAN, J.; LI, S.; LIAO, H. Co-inoculation with rhizobia and AMF inhibited soybean red crown rot from field study to plant defense-related gene expression analysis. *PLoS One*, v. 7, n. 3, p. e33977, 2012.
- GLICK, B. R. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian journal of microbiology*, v. 41, n. 2, p. 109-117, 1995.
- GLICK, B. R.; PASTERNAK, J. J.; PATTEN, C. L. Plant growth promoting bacteria. In: GLICK, B. R.; PASTERNAK, J. J.; PATTEN, C. L. (Eds.). *Molecular biotechnology: principles and applications of recombinant DNA*. 4 ed. Washington: ASM Press. 2010. p. 599-651.
- GÓMEZ EXPÓSITO, R.; DE BRUIJN, I.; POSTMA, J.; RAAIJMAKERS, J. M. Current insights into the role of rhizosphere bacteria in disease suppressive soils. *Frontiers in Microbiology*, v. 8, p. 2529, 2017.
- GUERINOT, M. L.; MEIDL, E. J.; PLESSNER, O. Citrate as a siderophore in *Bradyrhizobium japonicum*. *Journal of Bacteriology*, v. 172, n. 6, p. 3298-3303, 1990.
- GUPTA, G. K.; SHARMA, S. K.; RAMTEKE, R. Biology, epidemiology and management of the pathogenic fungus *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid with special reference to Charcoal Rot of Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). *Journal of Phytopathology*, v. 160, n. 4, p. 167-180, 2012.
- HARTMAN, G. L.; SINCLAIR, J. B.; AND RUPE, J. C. (Eds.). *Compendium of soybean diseases*. St. Paul, MN: American Phytopathological Society, 1999. 100 p.
- HILDEBRANDT, T. M.; NUNES NESI, A.; ARAÚJO, W. L.; AND BRAUN, H. P. Amino Acid catabolism in plants. *Molecular Plant*, v. 8, p. 1563-1579, 2015.
- HILLOCKS, R. J.; WALKER, J. M. Soilborne diseases and their importance in tropical agriculture. In: HILLOCKS, R.J.; WALLER, J.M. (Eds.) *Soilborne diseases of tropical crops*. Walingford, UK: CAB International, 1997. p. 365-376.
- HOITINK, H. A. J.; BOEHM, M. J. Biocontrol within the context of soil microbial communities: a substrate-dependent phenomenon. *Annual Review of Phytopathology*, v.37, n. 1, p. 427-446, 1999.
- ILLERA-VIVES, M.; LÓPEZ-FABAL, A.; LÓPEZ-MOSQUERA, M. E.; RIBEIRO, H. M. Mineralization dynamics in soil fertilized with seaweed-fish waste compost. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 95, n. 15, p. 3047-3054, 2015.
- IQUEBAL, M. A.; TOMAR, R. S.; PARAKHIA, M. V.; SINGLA, D.; JAISWAL, S.; RATHOD, V. M.; PADHIYAR, S.; KUMAR, N.; RAI, A.; KUMAR, D. Draft whole genome sequence of groundnut stem rot fungus *Athelia rolfsii* revealing genetic architect of its pathogenicity and virulence. *Scientific Reports*, v. 7, n. 1, p. 1-10, 2017. DOI: 10.1038/s41598-017-05478-8
- JANVIER, C.; VILLENEUVE, F.; ALABOUVETTE, C.; EDEL-HERMANN, V.; MATEILLE, T.; STEINBERG, C. Soil health through soil disease suppression: which strategy from descriptors to indicators? *Soil biology and Biochemistry*, v. 39, n. 1, p. 1-23, 2007.
- JENKINS, R.; JAIN, C. K. *Advances in soil-borne plant diseases*. Jaipur, India: Oxford Book Company, 2010. 285 p.
- KATAN, J. Diseases caused by soilborne pathogens: biology, management and challenges. *Journal of Plant Pathology*, v. 99, n. 2, p. 305-315, 2017.
- KHAN, S.; BASRA, S. M. A.; NAWAZ, M.; HUSSAIN, I.; FOIDL, N. Combined application of moringa leaf extract and chemical growth-promoters enhances the plant growth and productivity of wheat crop (*Triticum aestivum* L.). *South African Journal of Botany*, v. 129, p. 74-81, 2020.
- KHAN, W.; PALANISAMY, R.; CRITCHLEY, A. T.; SMITH, D. L.; PAPADOPOULOS, Y.; PRITHIVIRAJ, B. *Ascophyllum nodosum* extract and its organic fractions stimulate rhizobium root nodulation and growth of *Medicago sativa* (Alfalfa). *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v. 44, p. 900-908, 2013.
- KHAN, W.; RAYIRATH, U. P.; SUBRAMANIAN, S.; JITHESH, M. N.; RAYORATH, P.; HODGES, D. M.; CRITCHLEY, A. T.; CRAIGIE, J. S.; NORRIE, J.; PRITHIVIRAJ, B. Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *Journal of Plant Growth Regulation*, v. 28, n. 4, p. 386-399, 2009.
- KISHORE, G. K.; PANDE, S.; PODILE, A. R. *Pseudomonas aeruginosa* GSE 18 inhibits the cell wall degrading enzymes of *Aspergillus niger* and activates defence-related enzymes of groundnut in control of collar rot disease. *Australasian Plant Pathology*, v. 35, n. 2, p. 259-263, 2006.
- KLOEPPER, J. W.; RODRIGUEZ-KABANA, R.; ZEHNDER, A. W.; MURPHY, J. F.; SIKORA, E.; FERNANDEZ, C. Plant root-bacterial interactions in biological control of soilborne diseases and potential extension to systemic and foliar diseases. *Australasian Plant Pathology*, v. 28, n. 1, p. 21-26, 1999.

- KÖHL, J.; BELANGER, R. R.; FOKKEMA, N. J. Interaction of four antagonistic fungi with *Botrytis aclada* in dead onion leaves: a comparative microscopic and ultrastructural study. *Phytopathology*, v. 87, n. 6, p. 634-642, 1997.
- KÖHL, J.; MEDEIROS, F. H.; LOMBAERS-VAN DER PLAS, C.; GROENENBOOM-DE HAAS, L.; VAN DEN BOSCH, T. Efficacies of bacterial and fungal isolates in biocontrol of *Botrytis cinerea* and *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* and growth promotion in tomato do not correlate. *Biological Control*, v. 150, e104375, 2020. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2020.104375.
- KÖHL, J.; MOLHOEK, W. M.; VAN DER PLAS, C. H.; FOKKEMA, N. J. Suppression of sporulation of *Botrytis* spp. as a valid biocontrol strategy. *European Journal of Plant Pathology*, v. 101, n. 3, p. 251-259, 1995.
- LANUBILE, A.; ELLIS, M. L.; MAROCCO, A.; MUNKVOLD, G. P. Association of effector six 6 with vascular wilt symptoms caused by *Fusarium oxysporum* on soybean. *Phytopathology*, v. 106, n. 11, p. 1404-1412, 2016.
- LI, S.; ZHANG, N.; ZHANG, Z.; LUO, J.; SHEN, B.; ZHANG, R.; SHEN, Q. Antagonist *Bacillus subtilis* HJ5 controls *Verticillium* wilt of cotton by root colonization and biofilm formation. *Biology and fertility of soils*, v. 49, n. 3, p. 295-303, 2013.
- LIN, F.; WANI, S. H.; COLLINS, P. J.; WEN, Z.; LI, W.; ZHANG, N.; MCCOY, A. G.; BI, Y.; TAN, R.; ZHANG, S.; GU, C.; CHILVERS M. I.; WANG, D. QTL mapping and GWAS for identification of loci conferring partial resistance to *Pythium sylvaticum* in soybean (*Glycine max* (L.) Merr). *Molecular Breeding*, v. 40, p. 1-11, 2020.
- LOPES, A. A. C.; SOUSA, D. M. G.; CHAER, G. M.; REIS JUNIOR, F. B.; GOEDERT, W. J.; MENDES, I. C. Interpretation of microbial soil indicators as a function of crop yield and organic carbon. *Soil Science Society of America Journal*, v. 77, n. 2, p. 461-472, 2013.
- MACHADO, L. P.; GASPAROTO, M. C. G.; ALVES, N. Seaweeds in the control of plant diseases and insects. In: PEREIRA, L.; BAHCEVANDZIEV, K.; JOSHI, N. H. (Eds.). *Seaweeds as plant fertilizer, agricultural biostimulants and animal fodder*. Boca Raton: CRC Press, 2019. p. 100-127.
- MASTOURI, F.; BJÖRKMANN, T.; HARMAN, G. E. *Trichoderma harzianum* enhances antioxidant defense of tomato seedlings and resistance to water deficit. *Molecular plant-microbe interactions*, v. 25, n. 9, p. 1264-1271, 2012.
- MATTHIENSEN, R. L.; ROBERTSON, A. E. Comparison of aggressiveness and fungicide sensitivity of four *Pythium* spp. that cause damping-off of soybean in the United States. *Canadian Journal of Plant Pathology*, v. 43, n. 5, p. 769-782, 2021. DOI: 10.1080/07060661.2021.1881162.
- MAUCH, F.; MAUCH-MANI, B.; BOLLER, T. Antifungal hydrolases in pea tissue: II. Inhibition of fungal growth by combinations of chitinase and -1, 3-glucanase. *Plant Physiology*, v. 88, n. 3, p. 936-942, 1988.
- MONTE, E.; BETTIOL, W.; HERMOSA, R. *Trichoderma* e seus mecanismos de ação para o controle de doenças de plantas. In: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. (Eds.). *Trichoderma: uso na agricultura*. Brasília: Embrapa, 2019. p. 181-199.
- MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. *Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais*. 1 ed. Recife: Imprensa Universitária da Universidade Federal Rural de Pernambuco. v. 1, 2005. 398 p.
- MILLER, A. J.; FAN, X.; SHEN, Q.; SMITH, S. J. Amino acids and nitrate as signals for the regulation of nitrogen acquisition. *Journal of Experimental Botany*, v. 59, p. 111-119, 2007.
- NAMBIAR, P. T. C.; SIVARAMAKRISHNAN, S. Detection and assay of siderophores in cowpea rhizobia (*Bradyrhizobium*) using radioactive Fe (59Fe). *Letters in Applied Microbiology*, v. 4, n. 2, p. 37-40, 1987.
- NEGREIROS, A. M. P.; SALES JÚNIOR, R.; LEÓN, M.; MELO, N. J. A.; MICHEREFF, S. J.; AMBRÓSIO, M. M. Q.; MEDEIROS, H. L. S.; ARMENGOL, J. Identification and pathogenicity of *Macrophomina* species collected from weeds in melon fields in Northeastern Brazil. *Journal of Phytopathology*, v. 167, n. 6, p. 326-337, 2019. DOI: 10.1111/jph.12801
- NELSON, E. B. Microbial dynamics and interactions in the spermosphere. *Annual Review of Phytopathology*, v. 42, p. 271-309, 2004.
- O'KEEFE, E.; HUGHES, H.; MCLOUGHLIN, P.; TAN, S. P. Antibacterial activity of seaweed extracts against plant pathogenic bacteria. *Journal of Bacteriology and Mycology*, v.6, n. 3., p. 1105, 2019.
- O'SULLIVAN, D. J.; O'GARA, F. Traits of fluorescent *Pseudomonas* spp. involved in suppression of plant root pathogens. *Microbiological Reviews*, v. 56, n. 4, p. 662-676, 1992.
- OMAR, S. A.; ABD-ALLA, M. H. Biocontrol of fungal root rot diseases of crop plants by the use of rhizobia and bradyrhizobia. *Folia Microbiologica*, v. 43, n. 4, p. 431-437, 1998.
- PENG, D.; LI, S.; WANG, J.; CHEN, C.; ZHOU, M. Integrated biological and chemical control of rice sheath blight by *Bacillus subtilis* NJ-18 and jinggangmycin. *Pest Management Science*, v. 70, n. 2, p. 258-263, 2014.
- PERSAUD, R.; KHAN, A.; ISAAC, W. A.; GANPAT, W.; SARAVANAKUMAR, D. Plant extracts, bioagents and new generation fungicides in the control of rice sheath blight in Guyana. *Crop Protection*, v. 119, p. 30-37, 2019.
- PERSELLO-CARTIEAUX, F.; NUSSAUME, L.; ROBAGLIA, C. Tales from the underground: molecular plant-rhizobacteria interactions. *Plant, Cell & Environment*, v. 26, n. 2, p. 189-199, 2003.

- PIERSON III, L. S.; THOMASHOW, L. S. Cloning and heterologous expression of the phenazine biosynthetic. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, v. 5, p. 330-339, 1992.
- PRASAD, R.; KUMAR, M.; VARMA, A. Role of PGPR in soil fertility and plant health. In: EGAMBERDIEVA, D.; SHRIVASTAVA, S.; VARMA, A. (Eds.) **Plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and medicinal plants**. Switzerland: Springer, Cham., 2015. p. 247-260. DOI: 10.1007/978-3-319-13401-7
- RILEY, M. A.; WERTZ, J. E. Bacteriocins: evolution, ecology, and application. *Annual Reviews in Microbiology*, v. 56, n. 1, p. 117-137, 2002.
- ROY, K. W.; HERSHMAN, D. E.; RUPE, J. C.; ABNEY, T. S. Sudden death syndrome of soybean. *Plant Disease*, v. 81, n. 10, p. 1100-1111, 1997.
- RUSSIANO, M. C. S. **Potencial antagonista de *Bradyrhizobium* spp. sobre patógenos de solo na cultura da soja**. 103 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia / Produção Vegetal). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2020.
- SANTOS, K. M.; LIMA, G.S.; BARROS, A.P.O.; MACHADO, A.R.; SOUZA-MOTTA, C.M.; CORREIA, K.C.; MICHEREFF, S.J. Novel specific primers for rapid identification of *Macrophomina* species. *European Journal of Plant Pathology*, v. 156, p. 1213-1218, 2020.
- SCANDIANI, M. M.; CARMONA, M. A.; LUQUE, A. G.; MATOS, K. S.; LENZI, L.; FORMENTO, A. N.; MARTINEZ, C. V.; FERRI, M. R.; PICCOLO, K. L.; TARTABINI, M.; ALVAREZ, D.; SAUTUA, F. Isolation, identification and yield losses associated with Sudden death syndrome in soybeans in Argentina. *Tropical Plant Pathology*, v. 37, n. 5, p. 358-362, 2012.
- SENTHILKUMAR, M.; SWARNALAKSHMI, K.; GOVINDASAMY, V.; LEE, Y. K.; ANNAPURNA, K. Biocontrol potential of soybean bacterial endophytes against charcoal rot fungus, *Rhizoctonia bataticola*. *Current microbiology*, v. 58, n. 4, p. 288-293, 2009.
- SIDDIQUI, Z. A.; SINGH, L. P. Effects of soil inoculants on the growth, transpiration and wilt disease of chickpea. *Journal of Plant Diseases and Protection*, v. 111, n. 2, p. 151-157, 2004.
- SHAHABIVAND, S.; PADASH, A.; AGHAEI, A.; NASIRI, Y.; FATHI REZAEI, P. Plant biostimulants (*Funneliformis mosseae* and humic substances) rather than chemical fertilizer improved biochemical responses in peppermint. *Iranian Journal of Plant Physiology*, v. 8, n. 2, p. 2333-2344, 2018.
- SOURI, M. K. **Chelates and amino-chelates, and their role in plant nutrition**. Tehran: Agriculture Education and Extension Press, 2015. 172 p.
- SRIVASTAVA, A. K.; ARORA, D. K.; GUPTA, S.; PANDEY, R. R.; LEE, M. W. Diversity of potential microbial parasites colonizing sclerotia of *Macrophomina phaseolina* in soil. *Biology and fertility of soils*, v. 22, n. 1, p. 136-140, 1996.
- WALCH-LIU, P.; FORDE, B. G. Glutamate as a novel modifier of root growth and branching. What's the sensor? *Plant Signaling Behavior*, v. 2, p. 284-286, 2007.
- WEILAND, M.; MANCUSO, S.; BALUSKA, F. Signalling via glutamate and GLRs in *Arabidopsis thaliana*. *Functional Plant Biology*, v. 43, n. 1, p. 1-25, 2015.
- WEINDLING, R. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. *Phytopathology*, v. 22, n. 8, p. 837-845, 1932.
- WHIPPS, J. M. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of experimental Botany*, v. 52, suppl. 1, p. 487-511, 2001.
- WOZNIAK, E.; BLASZCZAK, A.; WIATRAC, P.; CANADY, M. Biostimulant mode of action: impact of biostimulant on whole-plant level. In: GEELEN, D.; XU, L. **The Chemical Biology of Plant Biostimulants**, 2020. p. 205-227. DOI: 10.1002/9781119357254.ch8
- WRATHER, J. A.; ANDERSON, T. R.; ARSYAD, D. M.; GAI, J.; PLOPER, L. D.; PORTIA-PUGLIA, A.; RAM, H. H.; YORINORI, J. T. Soybean disease loss estimates for the top 10 soy-bean producing countries in 1994. *Plant Disease*, v. 81, p. 107-110, 1997.
- XU, W.; WANG, K.; WANG, H.; LIU, Z.; SHI, Y.; GAO, Z.; WANG, Z. Evaluation of the biocontrol potential of *Bacillus* sp. WB against *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. *Biological Control*, v. 147, e 104288, 2020. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2020.104288
- YUAN, J.; RAZA, W.; SHEN, Q. Root exudates dominate the colonization of pathogen and plant growth-promoting rhizobacteria. In: SINGH, D. P.; GUPTA, V. K.; PRABHA, R. (Eds.). **Root Biology**. Singapore: Springer, 2018. p. 167-180.
- ZITNICK-ANDERSON, K. K.; NELSON JR, B. D. Identification and pathogenicity of *Pythium* on soybean in North Dakota. *Plant Disease*, v. 99, n. 1, p. 31-38, 2015.

Controle biológico de mofo-branco na cultura da soja

Maurício Conrado Meyer

Sérgio Miguel Mazaro

Cláudia Vieira Godoy

Introdução

O mofo-branco é causado por *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, um fungo fitopatogênico capaz de infectar mais de 400 espécies de plantas em todo o mundo. A maioria dessas espécies são dicotiledôneas, embora algumas monocotiledôneas de importância agrícola também sejam hospedeiras, como a cebola e a tulipa (Bolton et al., 2006). Com maior distribuição em regiões de clima temperado, *S. sclerotiorum* ocorre em mais 95 países e em quase todos os continentes, incluindo África, Ásia, Austrália, Europa, América do Norte e América do Sul, sendo que o patógeno é particularmente bem adaptado em regiões chuvosas e mais frias (Willbur et al., 2019)

O mofo-branco é uma das doenças mais importantes da cultura soja no Brasil, estimando-se uma área infestada de cerca de 27% do total da área de produção no país (Meyer et al., 2020). O potencial de redução de produtividade chegar a 70% em áreas altamente infestadas e quando as condições ambientais forem favoráveis ao desenvolvimento da doença e medidas de controle não sejam adotadas a tempo (Meyer et al., 2016). As perdas de rendimento são causadas pela redução da quantidade e do peso dos grãos, resultante do apodrecimento dos tecidos da planta, principalmente da haste principal e órgãos reprodutivos. Para cada ponto percentual de aumento da incidência de mofo-branco ocorre uma redução média na produtividade da soja de 17,2 kg ha⁻¹, e um incremento na produção de escleródios de 100 g ha⁻¹ (Lehner et al., 2016).

É uma doença de difícil manejo, considerando-se a ausência de resistência genética em cultivares comerciais, a ampla gama de hospedeiros alternativos e a capacidade de produzir abundante quantidade de escleródios, suas estruturas de sobrevivência no solo, que permitem a manutenção de inóculo primário de uma safra para a outra (Brustolin et al., 2016; Willbur et al., 2019). Desta forma, a integração de medidas de controle é primordial para o sucesso do manejo do mofo-branco em áreas infestadas, devendo-se adotar todas as recomendações de medidas culturais, controle químico e controle biológico.

O emprego destas medidas de manejo requer conhecimento da dinâmica do patossistema, para que elas efetivamente interfiram no ciclo biológico de *S. sclerotiorum* e nas suas relações com a planta

hospedeira, de modo a evitar a doença. Vários fatores estão relacionados à eficiência do manejo do mofo-branco, como a necessidade de condicionamento de solo para o estabelecimento de agentes antagonistas, a manutenção de cobertura uniforme do solo com palhada, a escolha adequada de culturas não hospedeiras em sucessão, a utilização de cultivares de soja com características agrônômicas que reduzam o progresso da doença, a aplicação de agentes de biocontrole em condições ambientais favoráveis ao estabelecimento dos antagonistas, o controle químico preventivo com a pulverização de fungicidas específicos nos momentos de maior favorabilidade de infecção nas plantas, entre outros (Campos et al., 2010; Görgen et al., 2010; Willbur et al., 2019).

Nesse capítulo pretende-se apresentar e discutir informações que contribuem para o manejo integrado do mofo-branco na cultura da soja, com ênfase no controle biológico.

Caracterização do patógeno

Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary é um fitopatógeno necrotrófico, pertencente ao reino Fungi, filo Ascomycota, classe Discomycetes, ordem Helotiales, família Sclerotiniaceae, gênero *Sclerotinia* (Bolton et al., 2006).

As hifas são hialinas, septadas, ramificadas e multinucleadas. O micélio apresenta-se branco ou esbranquiçado no meio de cultura e na planta. Não produz conídios assexuados. A sobrevivência a longo prazo ocorre pela produção de escleródios, que são estruturas de forma e tamanho variados, formados pelo enovelamento de micélio, revestido por uma camada externa pigmentada pela presença de melanina, de coloração preto fosco, e no interior, é composto por uma matriz filamentosa constituída por carboidratos, β -glucanas primárias e proteínas (Bolton et al., 2006; Saharan; Mehta, 2008).

Estudos realizados em condições de campo mostram que os escleródios podem permanecer viáveis no solo por até oito anos em países de clima temperado (Adams; Ayers, 1979), mas nas condições tropicais e subtropicais do Brasil, em sistema de semeadura direta sobre palha de gramíneas, a viabilidade dos escleródios é de até 12 meses (Menezes et al., 2014; Brustolin et al., 2016).

A sobrevivência dos escleródios também depende da profundidade em que eles se encontram enterrados e da disponibilidade de água no solo. Segundo Smolinska e Kowalska (2018), escleródios posicionados em camadas de 10 cm a 30 cm sobreviveram por mais tempo que os posicionados na superfície (0 a 5 cm), assim como em solo inundado a sobrevivência não ultrapassou 45 dias. Menezes et al. (2014) concluiu que a viabilidade de escleródios é mais dependente da manutenção da umidade na superfície do solo do que da cobertura de solo com palhada, observando maior mortalidade nos tratamentos sob irrigação na entressafra, em condições de cerrado, independente da presença de cobertura com palhada.

Os escleródios podem germinar emitindo micélio - germinação miceliogênica - ou formando apotécios - germinação carpogênica, dependendo das condições ambientais (Bolton et al., 2006; Saharan; Mehta, 2008).

A germinação miceliogênica produz hifas infecciosas, podendo colonizar e infectar tecidos vegetais tenros de algumas culturas como o feijão, girassol, canola, batata, nabo-forrageiro e hortaliças,

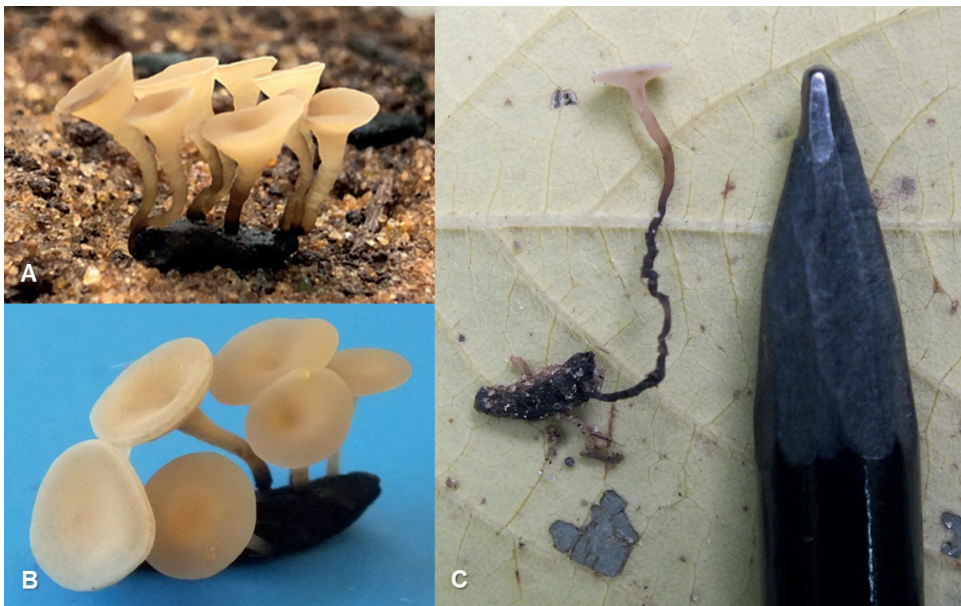
necessitando da presença de matéria orgânica como fonte de nutrição do fungo até efetivar a infecção (Abawi; Grogan, 1979; Bolton et al., 2006; Saharan; Mehta, 2008). A germinação miceliogênica não é a fonte mais frequente de infecção primária na cultura da soja (Grau; Hartman, 2015).

A germinação carpogênica consiste na formação de apotécios pelos escleródios, que são estruturas em forma de corneta ou taça (Figura 1), de coloração bege a amarelo-amarronzado, constituído por uma haste (estipe) que emerge do escleródio, formando um himênio na extremidade, medindo de 4 mm a 8 mm de diâmetro. No himênio são produzidos os ascosporos, que são os esporos sexuados do patógeno (Peltier et al., 2012).

A quantidade de água disponível no solo influencia diretamente o número de apotécios produzidos por escleródio e o tamanho dos apotécios refletindo, por conseguinte, no tempo de produção de ascosporos por apotécio. Umidade de solo acima de 60% da capacidade de campo é necessária para a plena produção de apotécios e ascosporos (Meyer et al., 2010).

Cada apotécio leva em média 10 a 14 dias para se formar, em condições de umidade de solo acima de 80% da capacidade de campo e temperaturas amenas (15° C a 18° C), e permanece produzindo ascosporos por um período de cinco a 10 dias, estimando-se que sejam gerados mais de dois milhões de ascosporos nesse período (Steadman, 1983).

Os escleródios precisam estar posicionados a até 5 cm de profundidade no solo para que ocorra a germinação carpogênica, mas a grande maioria dos apotécios observados no campo geralmente se encontram próximos à superfície do solo (Steadman, 1983; Görden et al., 2010).



Fotos: Maurício C. Meyer

Figura 1. Germinação carpogênica de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum*, com elevada formação de apotécios (A e B), e de um escleródio enterrado a cerca de 3 cm de profundidade no solo, mostrando a capacidade de elongação da estipe (C).

A produção de ascósporos ocorre constante e gradualmente dentro das ascas e, à medida que vão madurando, são ejetados simultaneamente dos apotécios toda vez que ocorre uma mudança repentina de umidade relativa do ar. Essas descargas forçadas formam bafejos de ascósporos cuja turbulência favorece a dispersão aérea e o alcance do dossel das plantas (Steadman, 1983). De acordo com Clarkson et al. (2003), em condições ideais de ambiente, estas descargas podem chegar a taxa de 1600 ascósporos por hora.

Ao alcançar a parte aérea das plantas de soja, os ascósporos necessitam de temperatura amena (15° C a 25° C) e período de molhamento foliar de duas a quatro horas, colonizando preferencialmente flores senescentes, de onde se formam micélio infectivo que pode penetrar diretamente na cutícula mediante degradação enzimática, força mecânica ou através dos estômatos, iniciando as lesões nas hastes e pecíolos da planta (Willbur et al., 2019; Grau; Hartman, 2015).

À medida que a doença progride produzindo micélio em abundância, formam-se novos escleródios que irão recompor a fonte primária de inóculo para os cultivos dos anos subsequentes (Willbur et al., 2019; Bolton et al., 2006; Grau; Hartman, 2015)

Biocontrole de *Sclerotinia sclerotiorum*

Dentre os agentes de controle biológico com potencial de controle de *S. sclerotiorum* estudados encontram-se bactérias e fungos de oito gêneros (Tabela 1). Esses antagonistas podem atuar de diferentes formas no biocontrole do patógeno, tais como antibiose, micoparasitismo e competição. Também são relatadas atividades de promoção de crescimento e indução de resistência na planta hospedeira. A grande maioria dos trabalhos científicos são realizados *in vitro* ou em casa de vegetação, no entanto, quando tais estudos avançam para pesquisas de campo, a expectativa da redução da doença e dos ganhos de produtividade têm se confirmado.

Tabela 1. Relação de microrganismos antagonísticos à *Sclerotinia sclerotiorum* estudados e seus respectivos potenciais de uso em biocontrole.

Microrganismo	Potencial de uso	Referências
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Biocontrole	Abdullah et al., 2008; Wu, et al., 2014
<i>Bacillus cereus</i>	Promoção de crescimento e redução da infecção da doença	Vitorino et al., 2020
<i>Bacillus pumilus</i>	Antagonismo	Otávio et al., 2018.
<i>Bacillus subtilis</i>	Biocontrole	Gabardo et al., 2020; Zhang et al., 2010; Zeng et al., 2012; Otávio et al., 2018
<i>Clonostachys rosea</i>	Redução da germinação carpogênica e redução da doença	Borel, 2014
<i>Coniothyrium minitans</i>	Biocontrole	Campbell, 1947; Zeng et al., 2012
<i>Myrothecium</i> sp.	Inibição do crescimento micelial, redução da severidade e retardo da infecção	Barros et al., 2015
<i>Pythium oligandrum</i>	Biocontrole	Rey et al., 2008
<i>Sporidesmium sclerotivorum</i>	Biocontrole, redução incidência da doença a campo	Del Rio et al., 2002
<i>Streptomyces lydicus</i>	Biocontrole	Zeng et al., 2012

Continua

Tabela 1. Continuação

Microrganismo	Potencial de uso	Referências
<i>Trichoderma</i> spp.	Biocontrole	Conto et al., 2021
<i>Trichoderma asperellum</i>	Antagonismo, redução da incidência da doença e ganho de produtividade	Juliatti et al., 2019
	Biocontrole	Gabardo et al., 2020
<i>Trichoderma asperelloides</i>	Biocontrole e promoção de crescimento de plantas	Haddad et al., 2017; Sumida et al., 2018
	Ativação de enzimas de defesa vegetal	Sumida et al., 2018
<i>Trichoderma atroviride</i>	Biocontrole e promoção de crescimento de plantas	Haddad et al., 2017.
	Redução da incidência da doença e ativação de enzimas de defesa vegetal	Menendez, Godeas, 1998; Zhang et al., 2016
	Associação com solarização no controle <i>S. sclerotiorum</i>	Pereira et al, 1996
<i>Trichoderma harzianum</i>	Biocontrole	Abdullah et al., 2008; Juliatti et al., 2019; Zeng et al., 2012; Zhang et al., 2016
	Redução da incidência da doença e ganho de produtividade	Juliatti et al., 2019
<i>Trichoderma koningiopsis</i>	Biocontrole e promoção de crescimento de plantas	Haddad et al., 2017.
<i>Trichoderma virens</i>	Biocontrole e promoção de crescimento de plantas	Haddad et al, 2017

No Brasil os produtos comerciais com alvo biológico para *S. sclerotiorum* estão restritos ao gênero *Bacillus*, sendo o *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* e o *Bacillus velezensis* e ao gênero *Trichoderma* com *T. harzianum*, *T. asperellum* e *T. afroharzianum* (Tabela 2).

Formulações de biofungicidas contento dois ou mais gêneros e/ou espécies de antagonistas têm sido registradas recentemente no Brasil, como, por exemplo, a associação de *B. amyloliquefaciens*, *T. harzianum*, *T. asperellum*. Tais associações, desde que sejam compatíveis, ampliam o espectro de ação dos agentes de biocontrole, haja visto que podem combinar diferentes mecanismos de ação e promover um controle mais efetivo dos escleródios.

Tabela 2. Biofungicidas registrados no Brasil para controle de *Sclerotinia sclerotiorum* (Mapa, 2022).

Agentes de biocontrole	Empresa	Produto comercial
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Iharabras S.A. Indústrias Químicas	Eco-Shot
<i>B. amyloliquefaciens</i>	Mitsui & Co. (Brasil) S.A.	Amylo-X SL
<i>B. amyloliquefaciens</i>	Simbiose Indústria e Comércio de Fertilizantes e Insumos Microbiológicos Ltda.	Nemacontrol
<i>B. amyloliquefaciens</i>	Simbiose Indústria e Comércio de Fertilizantes e Insumos Microbiológicos Ltda.	Faciens Protection
<i>B. amyloliquefaciens</i>	Simbiose Indústria e Comércio de Fertilizantes e Insumos Microbiológicos Ltda.	Inlayon
<i>B. amyloliquefaciens</i> + <i>Trichoderma harzianum</i>	Agrivalle Brasil Indústria e Comércio de Produtos Agrícolas Ltda.	Native

Tabela 2. Continuação

Agentes de biocontrole	Empresa	Produto comercial
<i>B. amyloliquefaciens</i> + <i>T. harzianum</i>	Agrivalle Brasil Indústria e Comércio de Produtos Agrícolas Ltda.	Shocker
<i>B. amyloliquefaciens</i> + <i>T. harzianum</i>	Massen Produtos Biológicos S.A.	Torpeno
<i>B. amyloliquefaciens</i> , isolado CCT 7901 + <i>T. harzianum</i> , isolado URM8119 + <i>T. asperellum</i> , isolado URM8120	Ballagro Agro Tecnologia Ltda.	BF 20.001
<i>B. amyloliquefaciens</i> , isolado CCT 7901 + <i>T. harzianum</i> , isolado URM8119 + <i>T. asperellum</i> , isolado URM8120	Ballagro Agro Tecnologia Ltda.	Pardella
<i>B. amyloliquefaciens</i> , isolado CCT 7901 + <i>T. harzianum</i> , isolado URM8119 + <i>T. asperellum</i> , isolado URM8120	Biota Innovations Indústria e Comércio de Bioprodutos Ltda.	Tanus
<i>B. amyloliquefaciens</i> , isolado CCT 7901 + <i>T. asperellum</i> isolado URM 8120 + <i>T. harzianum</i> , isolado URM 8119	Cooperativa Mista de Desenvolvimento do Agronegócio/ COMDEAGRO	Tricozak
<i>Bacillus subtilis</i>	Bayer S.A.	Serenade
<i>B. subtilis</i>	Biotrop Soluções Biológicas e Participações Ltda.	Paladyo
<i>B. subtilis</i>	Biotrop Soluções Biológicas e Participações Ltda.	Promobio
<i>B. subtilis</i>	Biotrop Soluções Biológicas e Participações Ltda.	Furatrop
<i>B. subtilis</i>	Vittia Fertilizantes e Biológicos S.A.	Multi-Guard
<i>B. subtilis</i>	Vittia Fertilizantes e Biológicos S.A.	Multi-attack
<i>B. subtilis</i>	Vittia Fertilizantes e Biológicos S.A.	Bio-Imune
<i>B. subtilis</i> + <i>Bacillus velezensis</i> , isolado CNPSO 3602	FMC Química do Brasil Ltda.	Provilar
<i>Trichoderma afroharzianum</i> cepa Th2RI99	Rizobacter do Brasil Ltda.	Rizoderma TSI
<i>Trichoderma asperellum</i>	Novozymes Bioag Produtos para Agricultura Ltda.	Trichodermax EC
<i>T. asperellum</i>	Vittia Fertilizantes e Biológicos S.A.	Tricho-Guard
<i>T. asperellum</i>	Vittia Fertilizantes e Biológicos S.A.	Tricho-Turbo
<i>T. asperellum</i> , isolado URM-5911	Lallemand Soluções Agrobiológicas Ltda.	Quality
<i>T. asperellum</i> , isolado CBMAI 1622	Genica Inovação Biotecnológica S.A.	Congregga
<i>T. asperellum</i> , isolado CBMAI 1622	Genica Inovação Biotecnológica S.A.	GNC006-2
<i>T. harzianum</i>	Ballagro Agro Tecnologia Ltda.	Tritter
<i>T. harzianum</i>	Ballagro Agro Tecnologia Ltda.	Ecotrich WP
<i>T. harzianum</i>	Ballagro Agro Tecnologia Ltda.	Predatox
<i>T. harzianum</i>	Ballagro Agro Tecnologia Ltda.	Rizoderma
<i>T. harzianum</i>	Biocontrol Sistema de Controle Biológico Ltda.	Trichodermaiz WP
<i>T. harzianum</i>	Koppert Do Brasil Holding Ltda.	Daytona
<i>T. harzianum</i>	Koppert Do Brasil Holding Ltda.	Trichodermil SC 1306
<i>T. harzianum</i>	Koppert do Brasil Holding Ltda.	Trichodermil Super SC 1306
<i>T. harzianum</i>	Koppert do Brasil Holding Ltda.	Trianum DS

Continua

Tabela 2. Continuação

Agentes de biocontrole	Empresa	Produto comercial
<i>T. harzianum</i>	Koppert do Brasil Holding Ltda.	Triatum WG
<i>T. harzianum</i>	Mezfer Br Soluções Agrícolas Ltda.	Natucontrol
<i>T. harzianum</i>	Simbiose Indústria e Comércio de Fertilizantes e Insumos Microbiológicos Ltda.	Biagro Solo
<i>T. harzianum</i>	Simbiose Indústria e Comércio de Fertilizantes e Insumos Microbiológicos Ltda.	Stimucontrol Evolution
<i>T. harzianum</i>	Simbiose Indústria e Comércio de Fertilizantes e Insumos Microbiológicos Ltda.	Plant Protection
<i>T. harzianum</i>	Simbiose Indústria e Comércio de Fertilizantes e Insumos Microbiológicos Ltda.	Stimucontrol
<i>T. harzianum</i>	Simbiose Indústria e Comércio de Fertilizantes e Insumos Microbiológicos Ltda.	GreenControl
<i>T. harzianum</i>	TZ Biotec Ltda.	Trychonyd FR 25
<i>T. harzianum</i> , cepa T-22	Koppert do Brasil Holding Ltda.	Walker

O principal mecanismo de ação de *Trichoderma* spp. no controle de *S. sclerotiorum* é o micoparasitismo, crescendo e parasitando escleródios e apotécios (Figura 2), degradando a parede celular das estruturas do patógeno pela ação de enzimas quitinolíticas, principalmente quitinases, glucanases, proteases e celulases. Além do micoparasitismo, a antibiose e a indução de resistência em plantas também são citadas como mecanismos de ação prevalentes no controle de *S. sclerotiorum* (Smolinska; Kowalska, 2018; Monte et al., 2019).

Os mecanismos de ação de *Bacillus* spp. no controle de *S. sclerotiorum* não são muito bem conhecidos, mas um de seus principais efeitos é a inibição da germinação carpogênica e do crescimento micelial do patógeno (Smolinska; Kowalska, 2018; Meyer et al., 2019; Meyer et al., 2020). Este gênero de bactérias produz uma gama de compostos antifúngicos e antibacterianos que suprimem o desenvolvimento de vários fitopatógenos, além de também promoverem a indução de resistência sistêmica em plantas (Vinodkumar et al., 2017; Smolinska; Kowalska, 2018). Não é comum encontrar colonização direta de *Bacillus* spp. sobre escleródios de *S. sclerotiorum*, formando exsudato bacteriano, mas pode ocorrer (Figura 2).

Manejo da doença

No manejo do mofo-branco é necessário levar em consideração o ciclo da doença na cultura da soja e as características biológicas do patógeno para reconhecer os momentos específicos de se intervir com as medidas de controle mais eficientes. Trata-se de uma doença monocíclica, ou seja, o patógeno consegue completar apenas um ciclo biológico durante o ciclo da cultura, e o patógeno é necrotrófico, o que significa que ele precisa desestruturar os tecidos vegetais para sua nutrição a partir de tecidos mortos do hospedeiro (Agrios, 2005). Sendo assim, após o aparecimento dos sinais e sintomas do mofo-branco, os danos às plantas já estão estabelecidos e são irreversíveis, devendo as medidas de controle serem adotadas sempre preventivamente. Além disso, *S. sclerotiorum* é extremamente polífago, apresentando mais de 400



Foto: Máuricio C. Meyer

Figura 2. Escleródios e apotécios de *Sclerotinia sclerotiorum* infectados por *Trichoderma* sp. (A e B) e escleródio recoberto por exsudato bacteriano (C).

espécies de hospedeiros, o que restringe as possibilidades de culturas para rotação/sucessão e também requer maior atenção ao controle de plantas invasoras (Bolton et al., 2006).

O manejo da doença tem como objetivos estratégicos a redução do banco de escleródios no solo (inóculo) e a redução da sua incidência na lavoura. As principais medidas de controle são: formação de palhada para cobertura uniforme do solo, preferencialmente oriunda de gramíneas; rotação e/ou sucessão com culturas não hospedeiras; emprego de controle biológico através da infestação do solo com agentes antagonistas; utilização de sementes de boa qualidade e tratadas com fungicidas sistêmicos; emprego de controle químico, através de pulverizações foliares de fungicidas principalmente no período de maior vulnerabilidade da planta (estádios de pré-fechamento das entrelinhas ou R1 até R4); escolha de cultivares com arquitetura de plantas que favoreça uma boa aeração entre plantas (pouco ramificadas e com folhas pequenas) e com período mais curto de florescimento, e, a utilização de população de plantas e espaçamento entrelinhas adequados às cultivares. Outra medida que contribui significativamente na redução da dispersão de *S. sclerotiorum* é a limpeza de máquinas e equipamentos após utilização em área infestada para evitar a disseminação de escleródios para novas áreas. A efetividade do controle do mofo-branco em

soja só é conseguida com a integração dessas medidas, não apresentando resultados satisfatórios isoladamente (Meyer et al., 2016; Wilbur et al., 2019).

Como o principal alvo no manejo de mofo-branco são os escleródios de *S. sclerotiorum*, o controle biológico é o principal meio de atingi-lo, através da infestação do solo com os biofungicidas e também pelo condicionamento do solo para o estabelecimento de antagonistas introduzidos e nativos de diversas espécies (Figura 3).



(Fotos: Maurício C. Meyer)

Figura 3. Escleródios e apotécios de *Sclerotinia sclerotiorum* parasitados por *Fusarium* sp. e por *Trichoderma* sp. (A) ou somente por *Fusarium* sp. (B); apotécios deformados por causa desconhecida (C); escleródios e apotécios atacados por larvas de insetos (D e E).

Este condicionamento refere-se à manutenção da umidade superficial do solo, fornecimento de matéria orgânica e redução da temperatura do solo (Nieto-Jacobo et al., 2017), tornando o ambiente do solo favorável tanto ao estabelecimento dos agentes de controle biológico, quanto à germinação carpopôgica. Para se atingir esse objetivo, a melhor opção é a adoção do sistema de plantio direto sobre palha, cultivando-se gramíneas que proporcionem uma farta e uniforme cobertura de solo na entressafra (Görgen et al., 2010; Wilbur et al., 2019). Além desse benefício, a palhada de cobertura de solo exerce outras duas funções também importantes no controle de mofo-branco em soja, que são o estabelecimento de uma barreira física, atuando como um filtro que retém os ascósporos ejetados sob a camada de palha (Figura 4) e, a outra função, é de estimular a germinação carpopôgica num período de ausência de cultura suscetível à doença durante a entressafra, promovendo o esgotamento das reservas e a consequente inativação dos escleródios (Görgen et al., 2008; Görgen et al., 2010).

A aplicação de biofungicidas deve ser realizada antes da germinação dos escleródios, ou seja, quando os escleródios se encontram em repouso no solo (Meyer et al., 2019). Considerando-se o sistema de produção de soja prevalente nas áreas de incidência de mofo-branco, o período de promoção do biocontrole de escleródios de *S. sclerotiorum* compreende toda a entressafra após a colheita da soja até o final do período vegetativo da cultura da soja na safra seguinte (Figura 4), sendo limitado pela escassez de chuvas e pelas baixas temperaturas no inverno, características em determinadas regiões.

Durante a cultura da soja, tem-se observado bons resultados de inviabilização de escleródios com duas aplicações de biofungicidas no início do estágio vegetativo (V2-V3 e V4-V5), a intervalos de cerca de 10 dias (Meyer et al., 2019). O efeito de biocontrole pela aplicação de *T. harzianum* na entressafra, comparando-se a presença e ausência de cobertura de palhada de *Urochloa ruziziensis* em condição de cerrado, foi estudado por Görgen et al. (2008), apontando uma taxa de mortalidade de escleródios de 80% nas parcelas com cobertura de palha, contra 42% nas parcelas sem palha; 97% de parasitismo de escleródios por *T. harzianum* nas parcelas com cobertura de palha, contra 45% nas parcelas sem palha; 2 apotécios/m² nas parcelas com cobertura de palha, contra 18 apotécios/m² nas parcelas sem palha.

O percentual médio de inibição de germinação carpopôgica de escleródios de *S. sclerotiorum* com duas aplicações de formulações de *T. harzianum* e *T. asperellum*, no início da fase vegetativa da cultura da soja, variou de 42% a 64% em experimentos de campo nas safras de 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016



Fotos: Sérgio M. Mazaro (A) e Maurício C. Meyer (B e C)

Figura 4. Uniforme cobertura de solo com palhada de trigo (A), de milho (B) e colonização de palhada com *Trichoderma* sp. (C).

(Meyer et al., 2016). Nos experimentos da safra 2019/2020, a inibição de germinação carpogênica variou de 20% a 36% com aplicação de formulações únicas ou combinadas de *Trichoderma* spp., e os percentuais de escleródios inviáveis variaram de 8,4% a 19,9% (Meyer et al., 2020).

Nas safras agrícolas de 2019/2020 e 2020/2021 foram avaliados no sul do Brasil o potencial de controle de formulações de *T. harzianum*, *B. subtilis* e a associação de *T. harzianum* + *T. asperellum* + *B. amyloliquefaciens*, através da taxa de colonização de escleródios dispostos nas entrelinhas do cultivo da soja, com aplicações em V2 e V4, observando-se a eficiência nos dois anos de cultivo, sendo que *T. harzianum* e *B. subtilis* não diferiram quanto a eficiência de colonização com média de 46% de controle e, no tratamento com a associação de *T. harzianum* + *T. asperellum* + *B. amyloliquefaciens*, o percentual médio de controle aumentou para 64%. A autora sugere que o elevado índice de colonização está relacionado à presença de abundante volume de palhada de cobertura de solo, que proporcionou ambiente altamente favorável ao estabelecimento dos agentes de biocontrole (Schmoller, 2021).

Conforme Meyer et al. (2019), para a eficiência do controle biológico, condições de ambiente semelhantes às que favorecem a germinação dos escleródios (alta umidade no solo, temperatura do ar entre 15 °C e 25 °C e pouca incidência de luz solar) são necessárias para o estabelecimento dos agentes de biocontrole. Nesse sentido, a presença de cobertura de solo com palhada é condicionante ao estabelecimento dos antagonistas, o que determina a eficiência do biocontrole. Ainda quando se utiliza a associação de plantas de cobertura em mistura de espécies, em sucessão à cultura da soja, tem-se favorecido a diversidade de espécies na biota do solo (Figura 5), o que aumenta o controle biológico de fitopatógenos como *S. sclerotiorum*.

Considerando a necessidade de integração das medidas de controle para o sucesso do manejo de mofo-branco, é sugerido um modelo que combina as principais práticas culturais com os controles químico e biológico, seguindo uma linha do tempo no sistema de produção de soja (Figura 6).



Foto: Sérgio M. Mazaro

Figura 5. Amostra de escleródios dentro de sacos de tela de náilon, mostrando a colonização por diferentes microrganismos, após exposição por 20 dias nas entrelinhas da cultura da soja, semeada após o cultivo de mistura de espécies de plantas de cobertura.

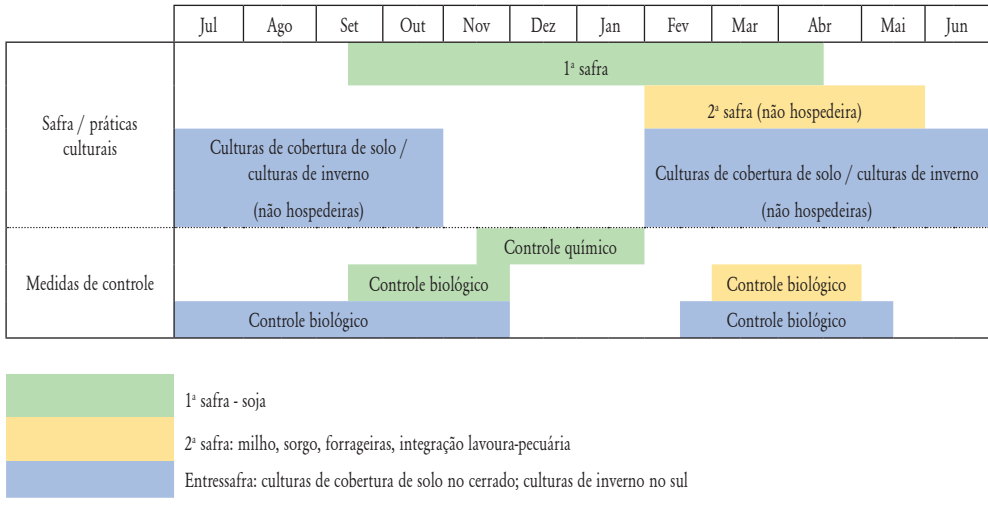


Figura 6. Sugestão de linha do tempo para o uso de agentes de biocontrole no manejo de mofo-branco em soja no Brasil.

Nota: os biofungicidas são aplicados uma ou duas vezes em cada safra, apenas quando as condições ambientais estejam ideais (dias chuvosos).

Considerações finais

O manejo do mofo-branco requer a adoção conjunta de medidas culturais, uso de fungicidas e de agentes de controle biológico, com o objetivo de redução do inóculo presente no solo e prevenir a incidência da doença.

As medidas culturais devem focar no esgotamento da reserva energética dos escleródios no solo, condicionamento do solo para o estabelecimento de antagonistas e no estabelecimento de barreiras que reduzam a dispersão dos ascósporos, fatores imprescindíveis para a redução da incidência do mofo-branco no campo.

A adoção de controle biológico de mofo-branco em soja deve ser orientado à associação de agentes com diferentes modos de ação e aplicados com tecnologia que permita atingir mais efetivamente o alvo biológico, em condições ambientais que permitam sua estabilização.

O emprego de controle químico deve ser mantido no manejo da doença, visando sempre a proteção preventiva das plantas, tendo-se como parâmetro de decisão da aplicação a presença de apotécios na lavoura.

Referências

- ABAWI, G. S.; GROGAN, R. G. Epidemiology of diseases caused by *Sclerotinia* species. **Phytopathology**, v. 69, pp. 899-904, 1979.
- ABDULLAH, M. T.; ALI, N. Y.; SULEMAN, P. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary with *Trichoderma harzianum* and *Bacillus amyloliquefaciens*. **Crop Protection**, v. 27, n. 10, p. 1354-1359, 2008. DOI: 10.1016/j.cropro.2008.05.007
- ADAMS, P.B.; AYERS, W.A. Ecology of *Sclerotinia* species. **Phytopathology**, v. 69, n. 8, p. 896-898, 1979. DOI: 10.1094/Phyto-69-896.
- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5th Edition. Academic Press. 2005. 952p.
- BARROS, D. C. M.; FONSECA, I. C. B.; BALBI-PEÑA, M. I.; PASCHOLATI, S. F.; PEITL, D. C. Biocontrol of *Sclerotinia sclerotiorum* and white mold of soybean using saprobic fungi from semi-arid areas of Northeastern Brazil. **Summa Phytopathologica**, v. 41, n. 4, p. 251-255, 2015. DOI:10.1590/0100-5405/2086
- BOLTON, M. D.; THOMMA, B. P. H. J.; NELSON, B. D. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. **Molecular Plant Pathology**, v. 7, n. 1, p. 1-16, 2006. DOI:10.1111/j.1364-3703.2005.00316.x
- BOREL, F. C. *Interaction of Sclerotinia sclerotiorum and Clonostachys rosea in soil and in plants of soybean and common bean*. 2014. 37 f. Dissertação (Mestrado em Etiologia; Epidemiologia; Controle) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- BRUSTOLIN, R.; REIS, E. M.; PEDRON, L. Longevity of *Sclerotinia sclerotiorum* sclerotia on the soil surface under field conditions. **Summa Phytopathologica**, v. 42, n. 2, p. 172-174, 2016.
- CAMPBELL, W. A. A new species of *Coniothyrium* parasitic on sclerotia. **Mycologia**, v. 39, n. 2, p. 190-195, 1947. DOI: 10.1080/00275514.1947.12017603
- CAMPOS, H. D.; SILVA, L. H. C. P.; MEYER, M. C.; SILVA, J. R. C.; NUNES JUNIOR, J. Mofo-branco na cultura da soja e os desafios da pesquisa no Brasil. **Tropical Plant Pathology**, v.35, p. C-CI, 2010. Suplemento.
- CLARKSON, J. P.; STAVELEY, J.; PHELPS, K.; YOUNG, C. S.; WHIPPS, J. M. Ascospore release and survival in *Sclerotinia sclerotiorum*. **Mycological Research**, v. 107, p. 213-222, 2003.
- CONTO, L. M.; COSTA, F. A.; COSTA, A. C.; ULHOA, C. J. Potencial de isolados de *Trichoderma* spp. nativos em controlar o fungo *Sclerotinia sclerotiorum* e como promotor de crescimento na cultura da soja. **Brazilian Journal of Development**, v.7, n.3, p.30616-30632, 2021. DOI: 10.34117/bjdv7n3-673
- DEL RIO, L. E.; MARTINSON, C. A.; YANG, X. B. Biological control of *Sclerotinia* stem rot of soybean with *Sporidesmium sclerotivorum*. **Plant Disease**, v. 86, n. 9, pp. 999-1004, 2002. DOI: 10.1094/pdis.2002.86.9.999
- GABARDO, G.; DALLA PRIA, M.; PRESTES, A.; SILVA, H. *Trichoderma asperellum* e *Bacillus subtilis* como antagonistas no crescimento de fungos fitopatogênicos *in vitro*. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 55870-55885, 2020. DOI: 10.34117/bjdv6n8-123.
- GÖRGEN, C. A.; CIVARDI, E.; PERRETO, E.; CARNEIRO, L. C.; SILVEIRA NETO, A. N.; RAGAGNIN, V.; LOBO JUNIOR, M. **Controle de Sclerotinia sclerotiorum com o manejo de Brachiaria ruziziensis e aplicação de Trichoderma harzianum**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2008. 4 p. (Embrapa Arroz e Feijão. Circular técnica, 81).
- GÖRGEN, C. A.; HIKISHIMA, M.; SILVEIRA NETO, A. N.; CARNEIRO, L. C.; LOBO JUNIOR, M. Mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*). In: ALMEIDA, A. M. R.; SEIXAS, C. D. S. (Eds.). **Soja: doenças radiculares e de hastes e inter-relações com o manejo do solo e da cultura**. Londrina: Embrapa Soja, 2010. p. 73-104.
- GRAU, C. R.; HARTMAN, G. L. *Sclerotinia* stem rot. In: HARTMAN, G. L.; RUPE, J. C.; SIKORA, E. J.; DOMIER, L. L.; DAVIS, J. A.; STEFFEY, K. L. **Compendium of soybean diseases and pests**. 5. ed. St. Paul, MN: **American Phytopathological Society**, 2015. p. 59-62.
- HADDAD, P.; LEITE, L.; LUCON, C.; HARAKAVA, R. Selection of *Trichoderma* spp. strains for the control of *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, n. 12, p. 1140-1148, 2017. DOI: 10.1590/s0100-204x2017001200002.
- JULIATTI, F. C.; REZENDE, A. A.; JULIATTI, B. C. M.; MORAIS, T. P. *Trichoderma* as a biocontrol agent against *Sclerotinia* stem rot or white mold on soybeans in Brazil: usage and technology. In: Shah, M.M.; Sharif, U.; Buhari, T.R. (Eds.). **Trichoderma - the most widely used fungicide**. IntechOpen: London, UK, 2019. DOI: 10.5772/intechopen.84544
- LEHNER, M. S.; PETHYBRIDGE, S. J.; MEYER, M. C.; DEL PONTE, E. M. Meta-analytic modelling of the incidence-yield and incidence-sclerotial production relationships in soybean white mold epidemics. **Plant Pathology**, v.66, n. 3, p 460-468, 2016.
- MAPA. **Agrofit: consulta aberta**. 2022. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agro_fit_cons>. Acesso em: 10 mar. 2022.

- MENENDEZ, A. B.; GODEAS, A. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* attacking soybean plants. Degradation of the cell walls of this pathogen by *Trichoderma harzianum* (BAFC 742). Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* by *Trichoderma harzianum*. *Mycopathologia*, v. 142, n. 3, p. 153-160, 1998. DOI: 10.1023/a:1006910707804
- MENEZES, A. F.; MACHADO, T. A.; CARVALHO, P. H.; MEYER, M. C. Longevidade de escleródios de *Sclerotinia sclerotiorum* sob diferentes formas de manejo de solo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 47.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MOFO BRANCO, 2014, Londrina. Desafios futuros: **anais**. Londrina: SBF, 2014. 1 CD-ROM.
- MEYER, M. C.; FERREIRA, L. C.; BAYLÃO, B. S. G.; COSTA, N. B.; GUERZONI, R. A.; PIMENTA, C. B.; NUNES JUNIOR, J.; VENANCIO, W. S. Efeito da disponibilidade de água no solo sobre a germinação carpogênica de *Sclerotinia sclerotium*, agente causal do mofo branco da soja. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 31., 2010, Brasília, DF. **Resumos...** Londrina: Embrapa Soja, 2010. p. 217-219.
- MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M. (Eds.). **Ensaios cooperativos de controle biológico de mofo-branco na cultura da soja - safras 2012 a 2015**. Londrina: Embrapa Soja, 2016. 46 p. (Embrapa Soja, Documentos, 368).
- MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; PIMENTA, C. B.; JACCOUD FILHO, D. S.; BORGES, E. P.; JULIATTI, F. C.; NUNES JUNIOR, J.; CARNEIRO, L. C.; SILVA, L. H. C. P. DA; SATO, L. N.; GOUSSAIN, M.; MARTINS, M. C.; TORMEN, N. R.; BALARDIN, R. S.; VENANCIO, W. S. **Eficiência de fungicidas para controle de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) em soja, na safra 2016/17: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos**. Londrina: Embrapa Soja, 2017. 5 p. (Embrapa Soja. Circular técnica, 133).
- MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; NUNES JUNIOR, J.; GOUSSAIN JUNIOR, M. M.; JACCOUD FILHO, D. S.; JULIATTI, F. C.; MARTINS, M. C.; VENANCIO, W. S.; CARNEIRO, L. C.; SILVA, L. H. C. P.; DIAS, A. R.; BORGES, E. P.; ITO, M. F. Mofo-branco em soja - ensaios cooperativos. In: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. da (Eds.). **Trichoderma: uso na agricultura**. Brasília, DF: Embrapa, 2019. p. 417-432.
- MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; OLIVEIRA, M. C. N.; NUNES JUNIOR, J.; LOBO JUNIOR, M.; JACCOUD FILHO, D. DE S.; VENANCIO, W. S.; MEDEIROS, F. H. V. DE; JULIATTI, F. C.; CARNEIRO, L. C.; BRUSTOLIN, R. **Experimentos cooperativos de controle biológico de *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura da soja: resultados sumarizados da safra 2019/2020**. Londrina: Embrapa Soja, 2020. 19 p. (Embrapa Soja. Circular técnica, 163).
- MONTE, E.; BETTIOL, W.; HERMOSA, R. *Trichoderma* e seus mecanismos de ação para o controle de doenças de plantas. In: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. da (Eds.). **Trichoderma: uso na agricultura**. Brasília, DF: Embrapa, 2019. p. 181-199.
- NIETO-JACOBO, M. F.; STEYAERT, J. M.; SALAZAR-BADILLO, F. B.; NGUYEN, D. V.; ROSTÁS, M.; BRAITHWAITE, M.; MENDOZA-MENDOZA, A. Environmental growth conditions of *Trichoderma* spp. affects indole acetic acid derivatives, volatile organic compounds, and plant growth promotion. *Frontiers in Plant Science*, v.8, a.102, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00102>
- PEREIRA, C. R.; CHAVES, G. M.; ZAMBOLIM, L.; MATSUOKA, K.; SILVA-ACUNA, R.; DO VALE, F. X. R. Controle integrado de *Sclerotinia sclerotiorum*. *Fitopatologia Brasileira*, v. 21, n. 2, p. 254-260, 1996.
- PELTIER, A. J.; BRADLEY, C. A.; CHILVERS, M. I.; MALVICK, D. K.; MUELLER, D. S.; WISE, K. A.; ESKER, P. D. Biology, yield loss and control of *Sclerotinia* stem rot of soybean. *Journal of Integrated Pest Management*, v. 3, n. 2, p. 1-7, 2012. DOI: 10.1603/jipm11033
- REY, P.; LE FLOCH, G.; BENHAMOU, N.; TIRILLY, Y. *Pythium oligandrum* biocontrol: its relationships with fungi and plants. In: BARKA, E.A.; CLÉMENT, C. (Eds.). **Plant-microbe interactions**. Trivandrum: Research Signpost, 2008. p. 43-67.
- SAHARAN, G. S.; MEHTA, N. ***Sclerotinia* diseases of crop plants: biology, ecology and disease management**. Dordrecht: Springer, 2008. 486 p.
- SCHMOLLER, I. **Biocontrole com *Trichoderma* e *Bacillus* à *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura da soja**. 2021. 44 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias; Manejo e Conservação de Agroecossistemas) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Pato Branco.
- SMOLINSKA, U.; KOWALSKA, B. Biological control of the soil-borne fungal pathogen *Sclerotinia sclerotiorum* -- a review. *Journal of Plant Pathology*, v. 100, p. 1-12, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s42161-018-0023-0>
- STEADMAN, J. R. White mold - a serious yield-limiting disease of bean. *Plant Disease*, v. 67, n. 4, p. 346-350, 1983. DOI: 10.1094/PD-67-346.
- SUMIDA, C. H.; DANIEL, J. F. S.; ARAUJO, A. P. C. S.; PEITL, D. C.; ABREU, L. M.; DEKKER, R. F. H.; CANTERI, M. G. *Trichoderma asperelloides* antagonism to nine *Sclerotinia sclerotiorum* strains and biological control of white mold disease in soybean plants. *Biocontrol Science and Technology*, v. 28, n. 2, p. 142-156, 2018. DOI: 10.1080/09583157.2018.1430743
- VINODKUMAR, S.; NAKKEERAN, S.; RENUKADEVI, P.; MALATHI, V. G. Biocontrol potentials of antimicrobial peptide producing *Bacillus* species: multifaceted antagonists for the management of stem rot of carnation caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Frontiers in Microbiology*, v. 8, a. 446, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00446>

- VITORINO, L. C.; SILVA, F. O. D.; CRUVINEL, B. G.; BESSA, L. A.; ROSA, M.; SOUCHIE, E. L.; SILVA, F. G. Biocontrol potential of *Sclerotinia sclerotiorum* and physiological changes in soybean in response to *Butia archeri* palm Rhizobacteria. **Plants**, v. 9, n. 1, a. 64, 23 p., 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants9010064>
- WILLBUR, J.; MCCAGHEY, M.; KABBAGE, M.; SMITH, D. L. An overview of the *Sclerotinia sclerotiorum* pathosystem in soybean: impact, fungal biology, and current management strategies. **Tropical Plant Pathology**, v. 44, p. 3-11, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40858-018-0250-0>
- WU, Y.; YUAN, J.; RAZA, W.; SHEN, Q.; HUANG, Q. Biocontrol traits and antagonistic potential of *Bacillus amyloliquefaciens* strain NJZJSB3 against *Sclerotinia sclerotiorum*, a causal agent of canola stem rot. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 24, n. 10, p. 1327-1336, 2014. DOI: <https://doi.org/10.4014/jmb.1402.02061>
- ZENG, W.; WANG, D.; KIRK, W.; HAO, J. Use of *Coniothyrium minitans* and other microorganisms for reducing *Sclerotinia sclerotiorum*. **Biological Control**, v. 60, n. 2, p. 225-232, 2012. DOI: [10.1016/j.biocontrol.2011.10.009](https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.10.009)
- ZHANG, F.; GE, H.; ZHANG, F.; GUO, N.; WANG, Y.; CHEN, L.; JI, X.; LI, C. Biocontrol potential of *Trichoderma harzianum* isolate T-aloee against *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean. **Plant Physiology and Biochemistry**, n. 100, p. 64-74, 2016. DOI: [10.1016/j.plaphy.2015.12.017](https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.12.017)
- ZHANG, J. X.; XUE, A. G. Biocontrol of sclerotinia stem rot (*Sclerotinia sclerotiorum*) of soybean using novel *Bacillus subtilis* strain SB24 under control conditions. **Plant Pathology**, v. 59, n. 2, p. 382-391, 2010. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3059.2009.02227.x>

Bioinsumos para o manejo de doenças foliares na cultura da soja

Claudine Dinali Santos Seixas

Sérgio Miguel Mazaro

Leandro Eugenio Cardamone Diniz

Cláudia Vieira Godoy

Maurício Conrado Meyer

Introdução

No controle de doenças foliares da soja tem-se utilizado fungicidas rotineiramente, muitas vezes sem critérios técnicos, de forma calendarizada, sem rotação de ativos químicos, sem levar em conta a incidência e/ou a severidade das doenças e desconsiderando a especificidade do alvo biológico. Como consequência, alguns dos patógenos de parte aérea mais comuns, como *Phakopsora pachyrhizi* (ferrugem-asiática), *Corynespora cassiicola* (mancha-alvo) e *Cercospora* spp. (crestamento de *Cercospora* e mancha-púrpura), já apresentam resistência ou menor sensibilidade às principais moléculas químicas utilizadas (Godoy et al., 2017; Godoy; Meyer, 2020).

O desafio que se apresenta, portanto, é que sejam revistos os princípios básicos para a ocorrência de doenças da soja, considerando-se a intensidade de inóculo do patógeno, a presença de hospedeiro suscetível e o ambiente favorável ao progresso da doença e que se busquem alternativas de controle, incluindo o uso de microrganismos benéficos (bioinsumos), como uma estratégia extra para compor o manejo integrado de doenças.

Tem-se avançado na busca de bioinsumos para o manejo de doenças foliares na cultura da soja. Na literatura encontram-se trabalhos com óleos essenciais (Medice et al., 2007; Mesquini et al., 2011, Borges et al., 2013), extratos de plantas (Borges et al., 2013), homeopáticos (Oliveira et al., 2017) e agentes de biocontrole (Ward et al., 2011, Dorighello et al., 2015; Dorighello et al., 2020; Twizeyimana; Hartman, 2019). Mas, até o momento da publicação deste livro, apenas produtos à base de microrganismos estão registrados para controle de doenças na cultura da soja. Mais especificamente produtos à base de bactérias do gênero *Bacillus*. Por isso é importante buscar conhecer os diferentes tipos de bioinsumos, entender as formas de ação e de utilização, assuntos que serão abordados neste capítulo.

Principais agentes de biocontrole e modos de ação

É relatada na literatura uma diversidade de potenciais agentes de controle biológico utilizados em diversas culturas. Dentre eles os gêneros *Trichoderma* e *Bacillus* merecem destaque por serem os mais estudados até o momento.

O gênero *Trichoderma* inclui os fungos mais estudados no mundo em relação a biocontrole de fitopatógenos em espécies cultivadas. Em uma recente revisão contemplando as principais pesquisas realizadas durante os últimos cinquenta anos para avaliar as interações entre antagonistas fúngicos e fungos fitopatogênicos, foram listados aproximadamente 300 antagonistas fúngicos pertencentes a 13 classes e 113 gêneros juntamente com os patógenos alvo e doenças de plantas correspondentes. *Trichoderma* foi identificado como o gênero com maior potencial, compreendendo 25 agentes de biocontrole que têm sido usados contra várias doenças fúngicas de plantas (Thambugala et al., 2020).

Trichoderma spp. são oportunistas e apresentam capacidade de colonizar substratos variados sob condições ambientais muito diversas. A maioria dos isolados do gênero *Trichoderma* vive em climas temperados e solos ácidos. Esses fungos podem produzir estruturas de resistência, clamidosporos e microescleródios e, com isso, são capazes de sobreviver em condições adversas (Monte et al., 2019).

Para a cultura da soja ainda é limitado o número de espécies exploradas comercialmente, ficando restrito a *T. harzianum* e *T. asperellum* (Mapa, 2022). Alguns produtos comerciais são formulados com associação dessas duas espécies, com o argumento de proporcionar maior eficiência, por combinar distintas formas de ação.

Mas para o controle de doenças na parte aérea na cultura da soja, o gênero *Bacillus* é o único que apresenta registro no momento da edição do livro, embora seja um processo dinâmico e as consultas de registro devam ser realizadas no Agrofit, sistema disponibilizado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa, 2022).

Bacillus spp. são bactérias Gram-positivas, amplamente distribuídas no ambiente, incluindo o solo, os ambientes marinhos, a água doce (Allen et al., 1983), os sedimentos, as sementes, a rizosfera, as folhas (Ercolani, 1978; Morris et al., 1981) e até em ambientes extremos como desertos e geleiras (Melo, 1998). Bactérias desse gênero formam esporos e endosporos. Uma das principais características é a capacidade de produzir endosporos resistentes ao calor (Melo, 1998; Wang et al., 2018). Produzem diferentes compostos biologicamente ativos, como enzimas amilolíticas, enzimas proteolíticas e antibióticos (Melo, 1998).

Bacillus subtilis é capaz de sintetizar mais de 60 tipos diferentes de antibióticos, principalmente polipeptídeos, muitos dos quais possuem efeitos antifúngicos. Esses pertencem à família das iturinas (Phae; Shoda, 1991). Além dos efeitos antifúngicos, alguns compostos podem atuar como promotores de crescimento (Turner; Backman, 1991). Existe grande variação na produção desses compostos entre as espécies de *Bacillus* e mesmo entre cepas da mesma espécie. Por exemplo, duas cepas de *B. subtilis* são comercializadas por diferentes empresas no mercado brasileiro: *B. subtilis* BV02 registrado como fungicida e bactericida microbiológico e *B. subtilis* (CNPSO 2657), registrado como nematocida (Mapa, 2022). Há também exemplos do sinergismo entre diferentes espécies de *Bacillus* quando associados em um único produto: *B. subtilis* cepa BRM 2084 associado a *B. megaterium* cepa BRM 119, registrado como solubilizador de fósforo e *B. pumilus* CCTB05, *B. subtilis* CCTB04 e *B. amyloliquefaciens* CCTB09 registrados como promotores de crescimento de plantas.

Ainda na linha de sinergismo, além de associações entre diferentes espécies de *Bacillus*, há produtos registrados com a associação com outros agentes, como é o caso de um fungicida microbiológico formulado a partir de *B. amyloliquefaciens*, *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma asperellum* (Mapa, 2022). Esse

fungicida está registrado para controle da antracnose do feijoeiro (*Colletotrichum lindemuthianum*), do mofo-banco (*Sclerotinia sclerotiorum*) e da mela (*Rhizoctonia solani*). Assim, é possível ter formulações para controle biológico utilizando bactérias e fungos simultaneamente, ampliando ainda mais a perspectiva de ação desses bioagentes.

Os diferentes mecanismos de ação dos agentes de biocontrole ocorrem por meio de um amplo espectro de fatores diretamente relacionados à quantidade de contato interespecíficos e à especificidade das interações (Thambugala et al., 2020). As formas de ação descritas na literatura para as espécies dos gêneros *Bacillus* e *Trichoderma* são competição, antibiose e indução de resistência.

A competição por nutrientes e nichos é um mecanismo fundamental pelo qual os agentes biológicos atuam na proteção das plantas aos fitopatógenos, sendo que os agentes microbianos geralmente atuam por colonização competitiva e da excreção de compostos antifúngicos. A eficácia do biocontrole é determinada, pelo menos parcialmente, pela capacidade intrínseca de utilizar nutrientes liberados pela planta hospedeira em competição com outros microrganismos, o que potencialmente leva à exclusão do patógeno (Boogert, 1996). Tal forma de ação, vem sendo mais descrita para fungos habitantes de solo, onde os compostos orgânicos liberados pelas raízes das plantas incluem aminoácidos, ácidos graxos, nucleotídeos, ácidos orgânicos, fenólicos, reguladores de crescimento de plantas, poliaminas, esteróis, açúcares e vitaminas (Woo et al., 2014; Monte et al., 2019). Além disso, *Trichoderma* tem a capacidade de produzir sideróforos capazes de quelatizar ferro e com isso interrompem o crescimento de agentes fitopatogênicos (Thambugala et al., 2020).

A antibiose é a produção e a secreção de compostos e metabólitos secundários antimicrobianos por fungos e bactérias antagonistas para inibir ou controlar os microrganismos patogênicos. Existe uma enorme diversidade de antibióticos com amplo espectro e estruturas diversas secretadas por *B. subtilis*, que incluem peptídeos, proteínas (enzimas) e produtos não peptídicos (Woo et al., 2014). *Bacillus subtilis* QST-713 produz iturina, agrastatina/plipastatina e surfactina, entre outros compostos que inibem a germinação de esporos e o crescimento do tubo germinativo de patógenos (Bettiol et al., 2012).

Metabólitos secundários produzidos por fungos podem modificar o crescimento e o metabolismo das plantas, enquanto outros parecem ter como alvo processos fúngicos específicos, como esporulação e alongamento de hifas (Thambugala et al., 2020). Os compostos produzidos por *Trichoderma* mais estudados são os peptaiboles, pequenos peptídeos não ribossômicos (NRP), poliquetídios (PK), terpenos e pironas como a 6-pentil-2H-piran-2-ona (6-PP) (Monte et al., 2019).

Sobre a indução de resistência, estudos indicaram que ocorre a ativação de mecanismos de defesa vegetal que estão associados a mudanças na composição da parede celular, a produção de proteínas relacionadas à patogênese (PR), como quitinases e glucanases, ao aumento nas atividades de enzimas como a fenilalanina amoniocaliase (FAL) e peroxidase (POD) e síntese de fitoalexinas, associadas à resistência (Woo et al., 2014; Monte et al., 2019; Paula et al., 2021).

O micoparasitismo, de acordo com Federação de Patologistas de Plantas Britânicas, se refere estritamente a fungos que existem em associação próxima com outro fungo do qual eles derivam alguns ou todos os seus nutrientes, sem produzir nenhum benefício em troca (Boogert, 1996). O gênero *Trichoderma* vem sendo extensivamente estudado para controle de patógenos habitantes do solo (Elad, 1996).

Vale ressaltar que os agentes de biocontrole podem atuar também nos processos de promoção de crescimento (Woo et al., 2014; Monte et al., 2019) e solubilização de nutrientes (Richardson, 2009), mas não são mecanismos ligados diretamente aos processos de parasitismo, motivo pelo qual não serão explorados neste capítulo.

Os mecanismos de ação, não podem ser generalizados pois devem ser consideradas as particularidades que envolvem as diferentes espécies e isolados/ cepas e, ainda, a associação entre microrganismos, o que permite comportamentos distintos quanto aos modos de ação.

Bioinsumos registrados para o manejo de doenças foliares na cultura da soja

Atualmente o processo de registro de fungicidas/bactericidas microbiológicos no Brasil, segue legislações muito próximas às utilizadas para registros de fungicidas químicos, por meio de processo moroso, sendo que existem limitados produtos atualmente registrados e muitos em fase registro.

Diversos produtos contendo bactérias do gênero *Bacillus* possuem registro para o controle de fungos habitantes do solo e de nematoides, sendo ainda restrita a disponibilidade de produtos registrados para o controle de doenças foliares (Mapa, 2022).

Os registros de biofungicidas são feitos para o alvo biológico, sendo reduzido o número de produtos com testes de eficiência para a cultura da soja, cujo maior volume dos trabalhos envolve fitopatógenos de raízes e hastes. Cinco fitopatógenos de parte aérea da soja possuem algum biofungicida registrado para seu controle, sendo eles *Colletotrichum truncatum*, *Septoria glycines*, *Corynespora cassiicola*, *Cercospora kikuchii* e *Phakopsora pachyrhizi* (Tabela 1).

Tabela 1. Fungicidas microbiológicos a base de *Bacillus* spp. registrados por alvo biológico, na cultura da soja (Mapa, 2022).

Agentes biológicos (empresa)	Alvos biológicos
<i>Bacillus pumilus</i> , CNPSo 3203 (Koppert)	<i>Septoria glycines</i> (mancha-parda) <i>Corynespora cassiicola</i> (mancha-alvo) <i>Cercospora kikuchii</i> (crestamento foliar de <i>Cercospora</i>)
<i>Bacillus subtilis</i> , CNPSo 2720 + <i>Bacillus velezensis</i> , CNPSo 3602 + <i>Bacillus pumilus</i> , CNPSo 3203 (Biotrop)	<i>Septoria glycines</i> (mancha-parda)
<i>Bacillus subtilis</i> BV02 (Vittia)	<i>Phakopsora pachyrhizi</i> (ferrugem-asiática) <i>Colletotrichum truncatum</i> (antracnose)
<i>Bacillus subtilis</i> + <i>Bacillus velezensis</i> , CNPSo 3602 (FMC)	<i>Colletotrichum truncatum</i> (antracnose)
<i>Bacillus velezensis</i> , RTI301 + <i>Bacillus subtilis</i> , RTI477 (FMC)	<i>Colletotrichum truncatum</i> (antracnose)

Para o manejo de doenças da cultura da soja é importante considerar e entender o patossistema envolvido, o que remete à forma de sobrevivência dos patógenos, à fonte do inóculo inicial, à(s) forma(s) de disseminação e de infecção, bem como o comportamento epidemiológico, se monocíclico ou policíclico e também se é um patógeno biotrófico, hemibiotrófico ou necrotrófico.

De posse dessas informações o manejo de doenças é mais efetivo, pois considera as particularidades e possibilita a intervenção adequada com diferentes estratégias de controle, incluindo o uso de agentes de biocontrole.

Principais Doenças de Parte Aérea

Na cultura da soja as principais doenças causadas por patógenos biotróficos são a ferrugem-asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) e o oídio (*Erysiphe diffusa*). As principais doenças causadas por patógenos necrotróficos são o crestamento de *Cercospora* (*Cercospora* spp.) e a mancha-alvo (*Corynespora cassiicola*). As doenças causadas por patógenos hemibiotróficos são a antracnose (*Colletotrichum* spp.) e a mancha-parda (*Septoria glycines*).

Doenças causadas por patógenos biotróficos

A ferrugem-asiática é a doença mais severa da cultura, podendo causar perdas de até 100% de produtividade. Os sintomas ocorrem principalmente nas folhas e podem ocorrer em qualquer estágio de desenvolvimento da cultura, levando à desfolha precoce. Desenvolve-se em uma ampla faixa de temperatura, de 10 °C a 27 °C, com faixa ótima entre 15 °C e 25 °C, sendo favorecida por longos períodos de molhamento e precipitações bem distribuídas. Na entressafra o fungo sobrevive em plantas voluntárias de soja e hospedeiros alternativos. A disseminação dos esporos se dá pelo vento. Não é transmitido por semente. A penetração do fungo ocorre de forma direta na folha através da epiderme (Melching et al., 1989; Del Ponte et al., 2006).

O oídio é causado pelo fungo *Erysiphe diffusa* e pode acarretar perdas de até 30%. Os sintomas podem ocorrer em qualquer parte da planta e em qualquer estágio de desenvolvimento. A sobrevivência do fungo ocorre em plantas voluntárias de soja e hospedeiros alternativos (feijão, tremoço-branco, feijão-de-porco, mucuna-branca). Os sintomas são uma fina cobertura esbranquiçada pulverulenta, constituída de micélio e esporos do fungo, que podem aparecer em pequenos pontos ou cobrir toda a parte aérea da planta, principalmente as folhas, em ambas as faces. O fungo coloniza os tecidos da planta superficialmente e obtém os nutrientes por meio de haustórios nas células da epiderme. A disseminação ocorre pelo vento. A doença é favorecida por períodos de baixa umidade e de temperaturas amenas (18 °C a 24 °C). As estratégias de controle da doença envolvem a utilização de cultivares resistentes e o controle químico após observação dos sintomas iniciais (Henning et al., 2014; Hartman, 2015; Seixas et al., 2020).

A intervenção de controle biológico para essas doenças deve ser preventiva. Considerando o comportamento epidemiológico policíclico desses patógenos biotróficos, o principal objetivo da estratégia de controle é retardar o máximo possível a ascendência da curva de progresso da doença, reforçando a necessidade da proteção preventiva das plantas, quando a inserção dos biofungicidas pode ser integrado ao manejo.

Um dos produtos registrados atualmente tem como um dos alvos *P. pachyrhizi* (Tabela 1). O produto é a base de *B. subtilis*, cepa BV02. Essa e outras espécies de *Bacillus* têm sido amplamente estudadas para controle desse patógeno.

Dorighello et al. (2015) avaliaram dois produtos comerciais, um a base de *B. subtilis* QST-723 e outro à base de *B. pumilus* QST-2808, além de três cepas de *B. subtilis* (AP-3, AP-51 e uma sem denominação da cepa), uma cepa de *B. licheniformis*, a mistura de *B. subtilis* com *B. licheniformis* e também óleo de café torrado e bruto. Compararam com um fungicida (piraclostrobina + epoxiconazol). Os testes foram feitos em folha destacada, em plantas em casa de vegetação e a campo. Em todos os testes o controle com o fungicida isolado foi o melhor tratamento. Mas foi verificado que os dois produtos comerciais (*B. subtilis* QST-723 e *B. pumilus* QST-2808) inibiram completamente a germinação dos uredosporos. Em folha destacada, além dos produtos comerciais, as cepas *B. subtilis* QST-713, *B. subtilis* AP-3 e *B. subtilis* AP-51 também reduziram significativamente a severidade da doença. Em casa de vegetação todas as cepas de *Bacillus*, com exceção da cepa *B. subtilis* AP-51, reduziram a curva abaixo do progresso de doença. Em condições de campo, o melhor resultado, entre os microrganismos, foi obtido com a cepa *B. subtilis* QST-713, com redução de 23% na severidade da doença. Os dados de produtividade não foram apresentados. Os autores ressaltam que embora agentes de biocontrole possam contribuir no manejo da ferrugem-asiática, é necessária a associação de outras estratégias, incluindo o uso de fungicidas químicos para obter o controle adequado da doença e evitar perdas de produtividade.

Ainda sobre esse mesmo estudo os efeitos dos dois produtos comerciais, sobre a germinação de uredosporos do patógeno estão relacionados à ação dos metabólitos presentes na formulação desses produtos. A ação prolongada desses metabólitos de forma sistêmica e eles persistem na planta por mais de uma semana, resultando na redução do inóculo primário, exercendo um efeito protetor na cultura. Já quando ocorre a mistura de dois agentes como *B. subtilis* e *B. licheniformis*, ocorre a formação de endosporos, sem a presença de metabólitos, dificultando sua ação imediata sobre o patógeno. (Dorighello et al., 2015)

O efeito benéfico de aplicações preventivas de agentes de biocontrole em soja, foi observado com isolados de *B. subtilis*, *B. firmus* e *B. amyloliquefaciens*, que além de reduzirem a germinação dos esporos em 72%, 69% e 82%, respectivamente, nos testes em folhas destacadas, independente da concentração, reduziram a severidade da ferrugem-asiática em até 96% com a aplicação preventiva, em até 70% com a aplicação simultânea e em até 47% com a aplicação curativa. Essas mesmas cepas foram testadas para controle de oídio, não sendo observada redução da severidade em casa de vegetação, reforçando a especificidade desses agentes quanto ao microrganismo alvo (Dorighello et al., 2017). O fato dessas cepas testadas não terem contribuído no controle de oídio não significa que as espécies não podem contribuir no controle, sendo necessário buscar e testar outras cepas.

Gabardo (2018) testou alguns produtos isolados e em combinação com aplicações do fungicida azoxistrobina + benzovindiflupir, para controle da ferrugem-asiática e de oídio, dentre os quais a cepa *B. subtilis* QSP, quitosana, enxofre e hipoclorito de sódio. Os experimentos foram conduzidos por três safras (2015/2016, 2016/2017, 2017/2018), com duas épocas de semeadura (outubro e dezembro). Os produtos isolados foram aplicados em quatro épocas (V4, V6, R1, R5.1) e nos tratamentos com as combinações, foram duas aplicações dos produtos alternativos na fase vegetativa (V4 e V6) e duas aplicações do

fungicida na fase reprodutiva (R1 e R5.1). Verificando os dados de produtividade, dos tratamentos com *B. subtilis* QSP, nas três safras, independente da época de semeadura o resultado das aplicações da bactéria isolada foi semelhante ao da testemunha, já quando combinada com o fungicida os resultados diferiram da testemunha e na maioria das situações (safra e época de semeadura) foi semelhante aos melhores tratamentos. Mas, para todos os alternativos, tanto para controle de ferrugem, quanto para controle de oídio a produtividade foi maior sempre quando associado com o fungicida.

Quando se avaliou *B. subtilis* QST 713 e *T. harzianum* T22 para o controle de *P. pachyrhizi*, os resultados demonstraram que *B. subtilis* apresentou eficiência de controle, mas, *T. harzianum* não se mostrou eficiente. Os autores sugerem que as espécies de *Trichoderma* precisam de condições ideais de umidade e nutrientes e essas condições geralmente ocorrem no solo e nas raízes. Nos tecidos foliares, a falta dessas condições pode impedir seu crescimento e a colonização do filoplano, resultando em falta de eficácia de *Trichoderma* contra patógenos de parte aérea. Sugerem ainda que o controle de ferrugem-asiática por *B. subtilis* pode ter ocorrido pela inibição da germinação de esporos de *P. pachyrhizi* por antibiose ou pela estimulação das defesas do hospedeiro (Twizeyimana; Hartman, 2019).

O potencial de *B. subtilis* BV02 no manejo de ferrugem-asiática foi estudado em diferentes pressões de inóculo, em dois ensaios no sul do Brasil, sendo um com baixa pressão de inóculo, com semeadura da soja realizada em setembro e colheita em fevereiro e outro com alta pressão, com semeadura em novembro e colheita em março. Os resultados demonstraram que *B. subtilis* BV02 apresenta potencial de controle da ferrugem, apresentando melhor performance em condições de baixa pressão de inóculo. Em ambas as situações o tratamento com *B. subtilis* BV02 diferiu da testemunha, mas ainda assim, houve alta incidência da doença. Por essa razão a indicação é o uso associado a fungicidas multissítios e sítio-específicos (Mazaro, dados não publicados).

Bacillus subtilis BV02 foi avaliado em ensaios em rede para controle da ferrugem-asiática em semeadura tardia, a partir de novembro, na safra 2020/2021 em 18 locais, em dois experimentos, de forma isolada e associado ao fungicida picoxistrobina + benzovindoflupir, sendo realizadas aplicações sequenciais a partir dos 50 dias da semeadura e repetidas a cada 14 dias em média. Na média de 15 experimentos, de forma isolada, o controle da ferrugem-asiática foi de 11% e a produtividade não diferiu da testemunha sem fungicida. Quando associado ao fungicida picoxistrobina + benzovindoflupir, não diferiu do produto isolado no controle da ferrugem-asiática e na produtividade, na análise de 15 e 14 experimentos, respectivamente. Em semeaduras tardias, mesmo iniciando as aplicações sem sintomas de ferrugem-asiática, não foi observado benefício na produtividade no uso de forma isolada ou associado ao fungicida picoxistrobina + benzovindoflupir nos ensaios em rede na safra 2020/2021 (Godoy et al., 2021).

Pelos trabalhos realizados até o momento sobre controle biológico de doenças foliares causadas por fungos biotróficos na cultura da soja, o gênero *Bacillus* vem demonstrando maior potencial de controle, sendo o mais adequado a se adotar na integração do manejo dessas doenças, em complementação à ação dos programas de fungicidas químicos.

Entretanto, outras espécies de microrganismos têm sido testadas. Ward et al. (2011) relataram um micoparasita de *P. pachyrhizi*, *Simplicillium lanosoneum*. O micoparasita foi capaz de colonizar folhas com ferrugem em três dias e no quarto dia já havia esporulação. Usando PCR em tempo real, detectaram

menores quantidades de DNA de *P. pachyrhizi* quando da colonização pelo micoparasita e severidade mais baixa. Mas os mesmos autores relatam que *S. lanosoniveum* não foi capaz de se estabelecer em folhas de soja na ausência do fungo da ferrugem. Isso pode ser uma desvantagem, já que a doença é muito severa e não tem sido bem controlada com aplicações curativas nem de fungicidas químicos.

Além de microrganismos, outros tipos de bioinsumos vêm sendo testados. Medice et al. (2008) testaram óleos essenciais de eucalipto citriodora (*Corymbia citriodora*), de citronela (*Cymbopogon nardus*), de nim (*Azadirachta indica*) e de tomilho (*Thymus vulgaris*), em diversas concentrações, in vitro e em casa de vegetação. In vitro, todos os óleos em todas as concentrações testadas inibiram a germinação dos uredosporos em 100%. Em casa de vegetação a evolução da doença foi retardada em até 62,3% em relação a testemunha.

Alguns extratos botânicos, biomassa cítrica, extrato bruto e óleo essencial de *Eucalyptus citriodora* e grãos de kefir, foram testados, comparando com um fungicida químico. Os maiores índices de controle dentre esses tratamentos, foram obtidos com a biomassa cítrica e os grãos de kefir, mas o fungicida ainda foi mais eficiente. Porém, os tratamentos não diferiram quanto a produtividade. Os autores sugerem que pode ter sido pela ocorrência tardia da doença, no estágio R5 da cultura (Mesquini et al., 2011). Portanto, apesar de mostrarem possibilidade em condições de campo, são necessários mais estudos para verificar se, de fato, essas alternativas de tratamento podem contribuir efetivamente no controle, com reflexo em produtividade.

Borges et al. (2013) testaram extratos de 67 espécies de plantas e cinco óleos essenciais comerciais. O teste foi feito in vitro, avaliando a germinação de uredosporos. Entre os extratos vegetais, cinco reduziram a germinação de uredosporos em mais de 90% [*Salvia officinalis* (sálvia) em 91,25%; *Pelargonium* sp. (gerânio) em 92,50%; *Lavandula officinalis* (alfazema) em 92,23%; *Mentha pulegium* (poejo) em 94,17%; *Mentha arvensis* (menta) em 96,11%]. Entre os óleos essenciais a inibição variou de 20% a 50%. Essa maior porcentagem de inibição da germinação de uredosporos foi do óleo de *Caryophyllus aromaticus* (cravo-da-índia). Por outro lado, alguns extratos estimularam a germinação do fungo.

Esses trabalhos com extratos de plantas, óleos essenciais e outros compostos indicam a possibilidade de uso para controle da ferrugem-asiática, porém são necessários testes adicionais, principalmente a campo, incluindo a avaliação da produtividade. Além disso é importante verificar a seletividade na planta e os possíveis efeitos fitotóxicos. Bigaton et al. (2013) testaram óleos essenciais e extratos metanólicos de aroeira-pimenteira (*Schinus terebinthifolius*) e quebra-machado (*Trichilia silvatica*). O extrato de aroeira-pimenteira a 5% (m/v), o óleo a 1% (v/v) tanto de aroeira-pimenteira quanto de quebra-machado foram fitotóxicos para a soja, provocaram queima em folíolos. E ainda, o extrato de aroeira-pimenteira a 5% (m/v) e o óleo a 1% (v/v) resultaram em maior intensidade da doença.

Doenças causadas por fungos necrotróficos e hemibiotróficos

As doenças causadas por patógenos necrotróficos são a mancha-alvo e o crestamento de *Cercospora* e mancha púrpura da semente.

Os sintomas típicos de mancha-alvo (*C. cassicola*) ocorrem nas folhas, iniciando por pontuações pardas, com halo amarelado e evoluindo para manchas circulares de coloração castanho-clara a castanho-

escura. Normalmente, as manchas apresentam pontuação no centro e anéis concêntricos alternando coloração clara e escura. Também podem ocorrer manchas em nervuras, pecíolos, hastes e vagens. A infecção é favorecida por alta umidade relativa. Cultivares suscetíveis podem sofrer desfolha com perdas de até 40% de produtividade. Além da soja, o fungo infecta mais de 400 espécies de plantas (Farr; Rossman, 2021). O fungo pode sobreviver em sementes infectadas e em restos de cultura, formando clamidosporos que são estruturas de sobrevivência (Godoy et al., 2016).

Cercospora kikuchii era a única espécie apontada como causadora do crestamento, mas recentemente estudos utilizando técnicas de biologia molecular apontaram que existem várias espécies associadas a essa doença. Os sintomas típicos são manchas foliares castanho-avermelhadas, que coalescem e formam grandes manchas escuras que resultam em crestamento e desfolha prematura, iniciando pelas folhas do terço superior da planta a partir de R5. Nas vagens, aparecem pontuações vermelhas que evoluem para manchas castanho-avermelhadas (Ward-Gauthier et al., 2015). Através da vagem, o fungo atinge a semente e causa a mancha púrpura no tegumento. A coloração das lesões é resultado da ação da toxina cercosporina produzida pelo fungo, que é ativada pela luz, produzindo espécies reativas de oxigênio, causando extravasamento do conteúdo celular, o que causa a morte celular.

A mancha-parda ou septoriose (*S. glycines*) e a antracnose (*Colletotrichum* spp.) são as doenças causadas por patógenos hemibiotróficos.

Septoria glycines pode aparecer cerca de duas semanas após a emergência, como pequenas pontuações ou manchas de contornos angulares, castanho-avermelhadas, nas folhas unifolioladas. No fim do ciclo, na fase final de desenvolvimento de grãos, em condições de altas umidade e temperatura, podem ser observadas de forma isolada ou associada ao crestamento-foliar de *Cercospora*, causando a desfolha precoce da lavoura (Seixas et al., 2020).

Várias espécies do gênero *Colletotrichum* foram relatadas como causadoras da antracnose no Brasil, a principal delas é *Colletotrichum truncatum*. Plântulas originadas de sementes infectadas apresentam necrose dos cotilédones, que pode se estender para o hipocótilo e causar o tombamento. O fungo também pode causar o apodrecimento da semente no solo, antes da emergência (Henning et al., 2014). Podem ocorrer lesões em hastes, nervuras das folhas, pecíolos e vagens. Mas, o principal sintoma é a queda e o apodrecimento de vagens. As vagens em início de formação (R4 - R5.1), quando infectadas, adquirem coloração castanho-escura a negra, ocorre abortamento de grãos e ficam retorcidas.

Considerando as doenças foliares causadas por fungos necrotróficos e hemibiotróficos, é importante conhecer a fonte do inóculo inicial. Tais patógenos possuem capacidade saprofítica, podendo apresentar estruturas de sobrevivência ou sobreviver na forma de micélio em restos culturais. Além disso, podem ser introduzidos por meio de sementes infectadas, que são outro meio de disseminação.

Essas características devem ser levadas em conta para traçar as estratégias e inserir os bioinsumos adequadamente no manejo das doenças.

Considerando as formas de transmissão, o tratamento de sementes pode ser a primeira intervenção. Em estudo realizado por Begum et al. (2010), foi avaliado o potencial de *Trichoderma harzianum*, *T. virens* e da bactéria *Pseudomonas aeruginosa* no tratamento de sementes de soja para controle de tombamento causado por *Colletotrichum truncatum*. Os três microrganismos foram capazes de reduzir

significativamente a incidência do tombamento tanto pré- quanto pós-emergência, sendo que a bactéria apresentou os melhores resultados, seguida de *T. harzianum*.

Carvalho et al. (2020) testaram o fungo *Aureobasidium pullulans*, também em tratamento de sementes para controle de *C. truncatum*. O índice de velocidade de germinação foi maior e a incidência de *C. truncatum* foi menor nas sementes tratadas com *A. pullulans*, quando comparado com as sementes inoculadas apenas com o fitopatógeno.

Além do uso de óleos essenciais diretamente, há a possibilidade da homeopatização desses óleos. Oliveira et al. (2007) testaram seis dinamizações (6CH, 12CH, 30CH, 60CH, 100CH e 200CH) de óleo essencial de eucalipto-limão [*Eucalyptus citriodora* (nome atual *Corymbia citriodora*)] e de capim-cidreira (*Cymbopogon citratus*). Avaliaram o efeito sobre a germinação de esporos de *C. cassiicola* e de *Alternaria solani*. Todas as dinamizações testadas reduziram a germinação dos dois fungos. Para *C. cassiicola* a redução chegou a 42% com a dinamização de 30CH. Havia também a expectativa de que esses produtos pudessem induzir a produção de gliceolina, uma fitoalexina, mas isso não ocorreu.

Mantecón (2008) avaliou fungicidas químicos e várias doses de dois produtos biológicos, um a base de *B. subtilis* QST-713 e outro a base *B. pumilus* QST-2808, para controle de septoriose na cultura da soja em condições de campo. A aplicação dos produtos foi feita no estádio R3. O produto a base de *B. subtilis* na maior dose ($2,7 \times 10^7$ CFU mL⁻¹) reduziu significativamente a doença.

Em ensaios realizados por S. M. Mazaró (dados não publicados), com a associação de *T. harzianum* URM 8119, *T. asperellum* URM 8120 e *Bacillus amyloliquefaciens* CCT 7901, em três cultivos de soja no sul do Brasil, com duas aplicações foliares em estádio fenológico V2 e V4, foi observada a redução da severidade de crestamento de *Cercospora* e de mancha-parda, assim como também de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*), demonstrando o amplo espectro de ação dos agentes de biocontrole. Vale ressaltar que esses ensaios foram instalados em sistema de semeadura direta sobre uma uniforme cobertura de solo com palhada de gramíneas e as aplicações realizadas em condições de alta umidade do solo, fatores determinantes para estabilização de *Trichoderma* e de *Bacillus*.

Em trabalho conduzido por Rissato (2021) com o uso associado de *B. pumilus* CCTB05, *B. subtilis* CCTB04 e *B. amyloliquefaciens* CCTB09, sendo realizada a primeira aplicação no estádio fenológico V5 e as demais com intervalos de 15 dias, observou-se o potencial de *Bacillus* no controle de doenças de final de ciclo, sendo que a associação com fungicidas demonstrou melhor performance. O uso isolado de *Bacillus* manteve os níveis de doença mais próximos da testemunha. Os dados demonstraram ainda que o uso de *Bacillus* spp. em duas aplicações iniciais e duas subsequentes de fungicidas, ou então, nas quatro aplicações associadas apresentaram boa performance na redução de doenças e com reflexo positivo em produtividade.

Poucos estudos relatam o uso de biológicos no manejo de doenças de final de ciclo na cultura da soja, mas esses, permitem considerar o potencial de *Bacillus*, como bioinsumo promissor no manejo integrado de doenças da soja. É exatamente a base de *Bacillus* os produtos registrados até o momento para controle de doenças foliares da soja.

Considerações finais

Nesse capítulo alguns trabalhos realizados buscando bioinsumos para controle de algumas doenças de parte aérea da soja foram relatados. O objetivo foi evidenciar a diversidade de possibilidades de bioinsumos, embora até o momento apenas produtos à base de *Bacillus* estejam registrados e disponíveis para controle dessas.

Pelo menos parte dos produtos mencionados ainda carecem de mais testes, principalmente a campo, em diferentes condições, em mais de uma safra, com avaliação da produtividade. Isso porque o efeito do bioinsumo sobre o microrganismo fitopatogênico deve ter reflexo positivo em produtividade, deve evitar perdas, para que de fato, possa ser uma estratégia para compor o manejo integrado dessas doenças. Também é importante registrar que os bioinsumos devem ser vistos como uma ferramenta a mais, junto com medidas legislativas, métodos culturais e químicos para alcançar o adequado manejo das doenças de forma racional e economicamente viável.

Referências

- ALLEN, D. A.; AUSTIN, B.; COLWELL, R. R. Numerical taxonomy of bacterial isolates associated with a fresh water fishery. *Journal of General Microbiology*, v. 129, p. 2043-2062, 1983.
- BEGUM, M. M.; SARIAH, M.; PUTEH, A. B.; ZAINAL ABIDIN, M. A.; RAHMAN, M. A.; SIDDIQUI, Y. Field performance of bio-primed seeds to suppress *Colletotrichum truncatum* causing damping-off and seedling stand of soybean. *Biological Control*, v. 53, n. 1, p. 18-23, 2010. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2009.12.001
- BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B.; PINTO, V. Z.; PAULA JUNIOR, T. J.; CORRÊA, E. D.; MOURA, A. B.; LUCON, C. M. M.; COSTA, J. C. B.; BEZERRA, J. L. **Produtos comerciais a base de agentes de biocontrole de doenças de plantas**. Jaguariúna: Embrapa, 2012. 155 p. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 88).
- BIGATON, D.; BACCHI, L. M. A.; FORMAGGIO, A. S. N.; GAVASSONI, W. L.; ZANELLA, C. S. Avaliação da atividade fungicida de extratos e óleos essenciais sobre ferrugem asiática da soja. *Revista Ciência Agronômica*, v. 44, n. 4, p. 757-763, 2013.
- BOOGERT, P. H. J. F VAN DEN. Mycoparasitism and biocontrol. In: SNEH, B.; JABAJI-HARE, S.; NEATE, S.; DIJST, G. (Eds.). *Rhizoctonia Species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control*. Noordwijkerhout, Netherlands: Springer, 1996. p. 485-493. DOI: 10.1007/978-94-017-2901-7
- BORGES, D. I.; ALVES, E.; MORAES, M. B. DE; OLIVEIRA, D. F. Efeito de extratos e óleos essenciais de plantas na germinação de urediniosporos de *Phakopsora pachyrhizi*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 15, n. 3, p. 325-331, 2013.
- CARVALHO, W. H. A. N. P.; SILVA, H. F.; SANTOS, A. M. G.; COSTA, E. M. Prospecção de *Aureobasidium pullulans*, isolado do bioma Caatinga, no biocontrole de *Colletotrichum truncatum* em sementes de soja. *Ensaios*, v. 24, n. 4, p. 370-380, 2020. DOI: 10.17921/1415-6938.2020v24n4p365-369
- DEL PONTE, E. M.; GODOY, C. V.; LI, X.; YANG, X. B. Predicting severity of Asian soybean rust epidemics with empirical rainfall models. *Phytopathology*, v. 96, p. 797-803, 2006.
- DORIGHELLO, D. V.; BETTIOL, W.; MAIA, N. B.; CAMPOS LEITE, R. M. V. B. Controlling Asian soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) with *Bacillus spp.* and coffee oil. *Crop Protection*, v. 67, 59-65, 2015. DOI: 10.1016/j.cropro.2014.09.017
- DORIGHELLO, D. V.; FORNER, C.; CAMPOS LEITE, R. M. V. B.; BETTIOL, W. Management of Asian soybean rust with *Bacillus subtilis* in sequential and alternating fungicide applications. *Australasian Plant Pathology*, 2020. DOI: 10.1007/s13313-019-00677-5
- DORIGHELLO, D. V. **Versatilidade de *Bacillus spp.* no controle biológico de doenças de plantas e na promoção de crescimento de soja**. 2017. 136 f. Tese (Doutorado em Agronomia, área de concentração Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu.
- ELAD, Y. Bacterial and fungal cell-wall hydrolytic enzymes in relation to biological control of *Rhizoctonia solani*. In: SNEH, B.; JABAJI-HARE, S.; NEATE, S.; DIJST, G. (Eds.). *Rhizoctonia Species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control*, p. 455-462, 1996. DOI: 10.1007/978-94-017-2901-7

- ERCOLANI, G. L. *Pseudomonas savastanoi* and other bacteria colonizing the surface of olive leaves in the field. *Journal of General Microbiology*, v. 109, p. 245-257, 1978.
- FARR, D. F.; ROSSMAN, A. Y. **Fungal databases**: U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA. 2021. Disponível em: <<https://www.nt.ars-grin.gov/fungal-databases/>>. Acesso em: 3 jul. 2021.
- GABARDO, G. **Manejo de doenças com produtos alternativos isolados e associados a fungicida na cultura da soja**. 2018. 165 f.; Tese (Doutorado em Agronomia, área de concentração: Agricultura) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa.
- GODOY, C. V.; ALMEIDA, A. M. R.; COSTAMILAN, L. M.; MEYER, M.; DIAS, W. P.; SEIXAS, C. D. S.; SOARES, R. M.; HENNING, A. A.; YORINORI, J. T.; FERREIRA, L. P.; SILVA, J. F. V.; Doenças da soja. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Org.). **Manual de Fitopatologia**. v. 2. Doenças das plantas cultivadas. 5. ed. 2016. p. 657-675.
- GODOY, C.V.; MEYER, M.C.; MELLO, F.E.; UTIAMADA, C.M. Resistencia de los hongos a fungicidas em soya. In: **Manual de Difusión Técnica de Soya 2017/2018**. Santa Cruz de La Sierra: FUNDACRUZ, 2017. p. 17-24.
- GODOY, C.V.; MEYER, M.C. Overcoming the threat of Asian soybean rust in Brazil. In: DEISING, H.B.; FRAAIJE, B.; MEHL, A.; OERKE, E.C.; SIEROTZKI, H.; STAMMLER, G. (Eds). **Modern Fungicides and Antifungal Compounds**. Braunschweig: Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft, v. IX, pp. 51-56. 2020.
- GODOY, C.V.; UTIAMADA, C.M.; MEYER, M.C.; CAMPOS, H.D.; LOPES, I.O.N.; TOMEN, A.; MUHL, A.; SCHIPANSKI, C.A.; SERCILOTO, C.M.; ANDRADE JUNIOR, E.R.; MORESCO, E.; ROY, J.M.T.; NAVARINI, L.; BELUFI, L.M.R.; DA SILVA, L.H.C.P.; ARAÚJO JÚNIOR, I.P.; FANTIN, L.H.; SATO, L.N.; GOUSSAIN JÚNIOR, M.M.; SENGER, M.; MÜLLER, M.A.; DEBORTOLI, M.P.; MARTINS, M.C.; CARLIN, VJ. **Eficiência de fungicidas multissítios e produto biológico no controle da ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2020/2021**: resultados sumarizados dos experimentos cooperativos. Londrina: Embrapa Soja, 2021. 20 p. (Embrapa Soja. Circular Técnica 175).
- HARTMAN, G. L. Powdery mildew. In: HARTMAN, G. L.; RUPE, J. C.; SIKORA, E. J.; DOMIER, L. L.; DAVIS, J. A.; STEFFEY, K. L. (Eds). **Compendium of soybean diseases and pests**. 5th ed. Saint Paul: APS Press, 2015. p. 51.
- HENNING, A. A.; ALMEIDA, A. M. R.; GODOY, C. V.; SEIXAS, C. D. S.; YORINORI, J. T.; COSTAMILAN, L. M.; FERREIRA, L. P.; MEYER, M. C.; SOARES, R. M.; DIAS, W. P. **Manual de identificação de doenças de soja**. 5. ed. Londrina: Embrapa Soja, 2014. 76 p. (Embrapa Soja. Documentos, 256).
- MANTECÓN, J. D. Efficacy of chemical and biological strategies for controlling the soybean brown spot (*Septoria glycines*). **Ciencia e Investigación Agraria**, v. 35, n. 2, p. 211-214, 2008. DOI: 10.4067/S0718-16202008000200011
- MAPA. **Agrofit**: consulta aberta. 2022. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agro_fit_cons>. Acesso em: 10 jan. 2022.
- MEDICE, R.; ALVES, E.; ASSIS, R. T.; MAGNO JUNIOR, R. G.; LOPES, E. A. G. L. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd & P. Syd. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 1, p. 83-90, 2007.
- MELCHING, J. S.; DOWLER, W. M.; KOOGLE, D. L.; ROYER, M. H. Effects of duration, frequency, and temperature of leaf wetness periods on soybean rust. **Plant Disease**, v. 73, p. 117-122, 1989.
- MELO, I. S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Controle biológico**. Jaguariúna, SP: Embrapa, 1998. p. 17-67
- MESQUINI, R. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; VIEIRA, R. A.; NASCIMENTO, J. F. Controle e progresso temporal da ferrugem-asiática da soja sob controle alternativo em campo. **Summa Phytopathologica**, v.37, n. 1, p. 24-29, 2011.
- MONTE, E.; BETTIOL, W.; HERMOSA, R. *Trichoderma* e seus mecanismos de ação para o controle de doenças de plantas. In: MEYER, M.C.; MAZARO, S.M.; SILVA, J.C. (Eds.). **Trichoderma**: uso na agricultura. Brasília, DF: Embrapa, 2019, p.181-199.
- MORRIS, J. R.; BERKELEY, R. C. W.; LOGAN, N. A.; O'DONELL, A. G.; The genera *Bacillus* and *Sporolletobacillus*. In: STARR, M. P.; STOLP, H.; TRÜPER, H. G.; BALOWS, A.; SCHLEGEL, H. G. (Eds.). **The Prokaryotes**: a handbook on habitats, isolation and identification of bacteria. Berlin: Springer-Verlag, 1981. p. 1711-1742.
- OLIVEIRA, J. S. B.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; BONATO, C. M.; CARNEIRO, S. M. T. P. G. Homeopatas de óleos essenciais sobre a germinação de esporos e indução de fitoalexinas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, n. 1, p. 208-215, 2017.
- PHAE, C.; SHODA, M. Investigation of optimal conditions for foam separation of iturin an antifungal peptide produced by *Bacillus subtilis*. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 71, p. 118-121, 1991.
- RICHARDSON, A. E. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 28, p. 897-906, 2009.

- RISSATO, R. B. *Bacillus no controle de doenças foliares de final de ciclo na cultura soja* - 26 f. Trabalhos de Conclusão de Curso II. Bacharelado em Agronomia. Orientador: Sérgio Miguel Mazaró - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2021.
- SEIXAS, C. D. S.; SOARES, R. M.; GODOY, C. V.; MEYER, M. C.; COSTAMILAN, L. M.; DIAS, W. P.; ALMEIDA, A. M. R. Manejo de doenças. In: SEIXAS, C. D. S.; NEUMAIER, N.; BALBINOT JUNIOR, A. A.; KRZYZANOWSKI, F. C.; LEITE, R. M. V. B. C. (Eds.). *Tecnologias de produção de soja*. Londrina: Embrapa Soja, 2020. p. 227-264. (Embrapa Soja. Sistemas de Produção, 17)
- THAMBUGALA, K.M.; DARANAGAMA, D. A.; PHILLIPS, A. J. L.; KANNANGARA, S. D.; PROMPUTTHA, I. Fungi vs. fungi in biocontrol: an overview of fungal antagonists applied against fungal plant pathogens. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 10, 2020. DOI: 10.3389/fcimb.2020.604923
- TURNER, J. T.; BACKMAN, P. A. Factors relating to peanut yield increases following *Bacillus subtilis* seed treatment. *Plant Disease*, v. 75, p. 347-353, 1991.
- TWIZEYIMANA, M.; HARTMAN, G. L. Effect of selected biopesticides in reducing Soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) *Development Plant Disease*, 2019. DOI: 10.1094/pdis-02-19-0384-re
- WANG, X. Q.; ZHAO, D. L.; SHEN, L. L.; JING, C. L.; ZHANG, C. S. Application and mechanisms of *Bacillus subtilis* in biological control of plant disease. In: MEENA, V. (Eds.) *Role of rhizospheric microbes in soil*. Springer, 2018. DOI: 10.1007/978-981-10-8402-7_9
- WOO, S. L.; RUOCCO, M.; VINALE, F.; NIGRO, M.; MARRA, R.; LOMBARDI, N.; LORITO, M. *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. *The Open Mycology Journal*, v. 8, n. 1, 2014.
- WARD-GAUTHIER, N. A.; SCHNEIDER, R. W.; CHANDA, A.; SILVA, E. C.; PRICE III, P. P.; CAI, G. *Cercospora* leaf blight and purple seed stain. In: HARTMAN, G. L.; RUPE, J. C.; SIKORA, E. J.; DOMIER, L. L.; DAVIS, J. A.; TEFPEY, K. L. (Ed.). *Compendium of soybean diseases and pests*. 5th. ed. Saint Paul: APS Press, 2015. p. 37-41.
- WARD, N. A.; ROBERTSON, C.L.; CHANDA, A. K.; SCHNEIDER, R. W. Effects of *Simplicillium lanosoneum* on *Phakopsora pachyrhizi*, the soybean rust pathogen, and its use as a biological control agent. *Phytopathology*, v. 102, p. 749-760, 2012.
- WARD, N. A.; SCHNEIDER, R. W. Colonization of soybean rust by *Simplicillium lanosoneum*. *Fungal Ecology*, v. 4, p. 303-308, 2011.

Manejo biológico de nematoides

Cláudia Regina Dias-Arieira

Simone de Melo Santana-Gomes

Angélica Miamoto

Andressa Cristina Zamboni Machado

Introdução

Os fitonematoides são organismos vermiformes que habitam o solo e se alimentam de plantas. Eles estão entre os patógenos mais prejudiciais para a agricultura, com perdas mundiais superiores a 157 bilhões de dólares (Hassan et al., 2013), enquanto no Brasil, as perdas anuais estão estimadas em mais de 35 bilhões de reais.

Dentre os nematoides mais importantes para a agricultura nacional estão os nematoides das galhas, com destaque para as espécies *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*, os nematoides das lesões radiculares, especialmente *Pratylenchus brachyurus* e *P. zeae*, o nematoide de cisto da soja, *Heterodera glycines*, e o nematoide reniforme, *Rotylenchulus reniformis*. Os nematoides das galhas e das lesões destacam-se como os mais amplamente distribuídos e com maior gama de hospedeiros, parasitando praticamente todas as plantas cultivadas.

Das espécies citadas, *Meloidogyne* spp. e *H. glycines* são classificadas como endoparasitas sedentários. *Rotylenchulus reniformis* é semiendoparásita sedentário, enquanto *Pratylenchus* spp. são endoparasitas migradores. No caso dos nematoides sedentários, as fêmeas adquirem formato aberrante, que impede sua movimentação, e os ovos são depositados em matriz gelatinosa na superfície da raiz ou são retidos no interior do corpo das fêmeas, no caso do nematoide de cisto; os migradores mantêm o corpo vermiforme, podendo mover-se livremente, e os ovos são depositados isoladamente no interior das raízes ou no solo. Conhecer estas características é importante na escolha de produtos para o controle biológico, visto que alguns biocontroladores precisam ter, além de alta eficiência, rápida colonização e ação, impedindo a penetração inicial do nematoide.

Como para a maioria dos patógenos habitantes de solo, o controle de nematoides é bastante complexo e os melhores resultados são obtidos pelo manejo integrado, que se baseia em quatro pilares: genético, químico, cultural e biológico. Destes, alguns apresentam maiores limitações quanto ao uso, como o número restrito de cultivares resistentes com elevada eficiência de controle e alta produtividade, e o número limitado de princípios ativos registrados para o controle químico. O controle cultural

assume papel crucial no manejo de nematoides, especialmente pelo uso de plantas antagonistas ou não hospedeiras em sistemas de rotação ou sucessão de culturas. Mas, ainda assim, algumas restrições de uso para espécies de nematoides com ampla gama de hospedeiros ou espécies vegetais pouco adaptadas a algumas condições edafoclimáticas impedem sua ampla utilização.

Neste contexto, o controle biológico tem se destacado no manejo integrado, visto que ele pode ser associado a todas as práticas já citadas, protegendo cultivares ou assegurando a melhor performance das mesmas frente a populações agressivas do patógeno, e associando-se ao controle químico, com possibilidade de efeito aditivo sobre os nematoides. Além disso, a adoção conjunta do controle cultural e biológico vem se expandindo e promovendo o manejo sustentável das espécies de maior impacto para a agricultura e, nestes casos, os biocontroladores podem ser inseridos tanto na cultura principal, quanto nas espécies utilizadas no sistema de rotação.

Desenvolvimento

Dentro das estratégias de manejo de nematoides, sem dúvida o controle biológico foi a que mais cresceu. Contudo, apesar de inúmeras pesquisas com diferentes agentes para o controle biológico, muitas espécies apresentam restrições quanto à produção em larga escala, tempo de prateleira e competitividade na rizosfera, o que faz com que diversos organismos fiquem restritos às pesquisas laboratoriais ou condições controladas. Desta forma, os microrganismos que chegam ao mercado passam por severas avaliações e, quando registrados junto ao MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), são seguramente eficientes.

O Brasil conta atualmente com mais de 50 produtos registrados para o controle biológico de nematoides Mapa (2022), incluindo fungos e bactérias (Tabela 1).

Tabela 1. Produtos biológicos registrados a base de *Bacillus* spp., *Pasteuria nishizawae*, *Pochonia chlamydosporia*, *Purpureocillium lilacinum* e *Trichoderma* spp. no controle de fitonematoides. Fonte: Mapa (2022)

Agente(s) de Biocontrole	Cepa(s)	Nome Comercial	Detentor do Registro
<i>B. amyloliquefaciens</i>	IMA 411	AmyloTrop	COMDEAGRO
<i>B. amyloliquefaciens</i>	PTA-4838	Aveo EZ®	Sumitomo
<i>B. amyloliquefaciens</i>	UMAF6614	Boneville®	Koppert
<i>B. amyloliquefaciens</i>	UMAF6614	Chevelle®	Koppert
<i>B. amyloliquefaciens</i>	SIMBI BS 10	Faciens Protection®	Simbiose
<i>B. amyloliquefaciens</i>	SIMBI BS 10	Inlayon®	Simbiose
<i>B. amyloliquefaciens</i>	PTA-4838	Lumialza™	Sumitomo
<i>B. amyloliquefaciens</i>	BV03	Nema-Attack™	Vittia
<i>B. amyloliquefaciens</i>	BV03	Nema-Guard™	Vittia
<i>B. amyloliquefaciens</i>	SIMBI BS 10	NemaControl®	Simbiose
<i>B. amyloliquefaciens</i>	SIMBI BS 10	Nemacontrol Super®	Simbiose
<i>B. amyloliquefaciens</i>	BV03	No-Nema®	Vittia
<i>B. amyloliquefaciens</i>	MBI600	Trunemco™	Sumitomo

continua

Tabela 1. Continuação

Agente(s) de Biocontrole	Cepa(s)	Nome Comercial	Detentor do Registro
<i>B. amyloliquefaciens</i>	UMAF6614	Veraneio®	Koppert
<i>B. firmus</i>	I-1582	Andril Prime®	Basf S.A.
<i>B. firmus</i>	I-1582	Oleaje Prime®	Basf S.A.
<i>B. firmus</i>	I-1582	Votivo Prime®	Basf S.A.
<i>B. methylotrophicus</i>	SF 267	Onix®	Lallemand
<i>B. methylotrophicus</i>	UFPEDA 20	Onix OG®	Lallemand
<i>B. subtilis</i>	BV09	Baci-Attack B	Vittia
<i>B. subtilis</i>	BV09	Baci-Guard®	Vittia
<i>B. subtilis</i>	BV09	Biobaci®	Vittia
<i>B. subtilis</i>	Y1336	Biobac®	UPL do Brasil
<i>B. subtilis</i>	CNPSo 2657	Furatrop	Biotrop
<i>B. subtilis</i>	CNPSo 2657	Nematrop	Biotrop
<i>B. subtilis</i>	CNPSo 2657	Paladyo	Biotrop
<i>B. subtilis</i>	CNPSo 2657	Promobio	Biotrop
<i>B. subtilis</i>	SF 202 A	Rizos®	Lallemand
<i>B. subtilis</i>	UFPEDA 764	Rizos OG®	Lallemand
<i>B. velezensis</i>	CNPSo 3602	Bionema	Biotrop
<i>B. velezensis</i>	CNPSo 3602	Rudder	Biotrop
<i>B. subtilis</i> + <i>B. licheniformis</i>	FMCH002 + FMCH001	Quartzo	FMC
<i>B. subtilis</i> + <i>B. licheniformis</i>	FMCH002 + FMCH001	Presence®	FMC
<i>B. subtilis</i> + <i>B. licheniformis</i> + <i>P. lilacinum</i>	ATCC 6051 + ATCC 12713 + CPQBA 040-11 DRM 10	AgDommon	Massen
<i>B. subtilis</i> + <i>B. licheniformis</i> + <i>P. lilacinum</i>	ATCC 6051 + ATCC 12713 + CPQBA 040-11 DRM 10	Messenger	Massen
<i>B. subtilis</i> + <i>B. licheniformis</i> + <i>P. lilacinum</i>	ATCC 6051 + ATCC 12713+CPQBA 040-11 DRM 10	Profix®	Agrivalle
<i>B. subtilis</i> + <i>B. licheniformis</i> + <i>P. lilacinum</i>	ATCC 6051 + ATCC 12713+CPQBA 040-11 DRM 10	Profix®-A	Agrivalle
<i>P. nishisawae</i>	Pn1	Clariva® PN	Syngenta
<i>P. chlamydosporia</i>	BV 07	PC-Attack	Vittia
<i>P. chlamydosporia</i>	BV 07	PC-Guard	Vittia
<i>P. chlamydosporia</i>	BV 07	Rizo-Turbo	Vittia
<i>P. chlamydosporia</i>	Pc-10	Rizotec®	Rizoflora
<i>P. lilacinum</i>	CCT 7766	Atialy	Agrobiológica
<i>P. lilacinum</i>	PL11	Biostat® WP	Mitsui & Co
<i>P. lilacinum</i>	Uel Pae 10	Nemat®	Ballagro
<i>P. lilacinum</i>	Uel Pae 10	BN40.001/19	Ballagro
<i>P. lilacinum</i>	Uel Pae 10	Nettus	Ballagro
<i>P. lilacinum</i>	CCT 7766	Nemakill®	Agrobiológica

continua

Tabela 1. Continuação

Agente(s) de Biocontrole	Cepa(s)	Nome Comercial	Detentor do Registro
<i>P. lilacinum</i>	CCT 2146	Purpureonyd FR 25®	TZ Biotec Ltda.
<i>T. harzianum</i>	ESALQ-1306	Daytona	Koppert
<i>T. harzianum</i>	ESALQ-1306	Trichodermil® SC	Koppert
<i>T. harzianum</i>	ESALQ-1306	Trichodermil® Super SC	Koppert
<i>T. koningiopsis</i>	IBCB 56/12	Lalnix Resist	Lallemand

Obs: COMDEAGRO: Cooperativa Mista de Desenvolvimento do Agronegócio; Sumitomo: Sumitomo Chemical do Brasil Representações Ltda; Koppert: Koppert do Brasil Holding Ltda; Simbiose: Simbiose Indústria e Comércio de Fertilizantes e Insumos Microbiológicos Ltda; Vittia: Vittia Fertilizantes e Biológicos S.A.; Lallemand: Lallemand Soluções Agrobiológicas Ltda; Biotrop: Biotrop Soluções Biológicas e Participações Ltda; UPL do Brasil: UPL do Brasil Indústria e Comércio de Insumos Agropecuários S.A.; FMC: FMC Química do Brasil Ltda; Massen: Massen Produtos Biológicos S.A.; Agrivalle: Agrivalle Brasil Indústria e Comércio de Produtos Agrícolas S.A.; Syngenta: Syngenta Proteção de Cultivo Ltda; Rizoflora: Rizoflora Biotecnologia Ltda; Agrobiológica: Agrobiológica Sustentabilidade S.A.; Mitsui & Co. (Brasil) S.A.; Ballagro: Ballagro Agro Tecnologia Ltda.

Dentre os fungos adotados para o controle de nematoides, estão aqueles classificados como quitinolíticos, que inclui as espécies *Purpureocillium lilacinum* (syn. *Paecilomyces lilacinus*) e *Pochonia chlamydosporia*, e os produtores de metabólitos tóxicos e indutores de resistência, como *Trichoderma* spp.

Purpureocillium lilacinum e *P. chlamydosporia* são fungos oportunistas com grande expressão no controle biológico de fitonematoides, tendo como principais mecanismos de ação o parasitismo de ovos e fêmeas e a indução de resistência em plantas. Esses fungos também são caracterizados pelo hábito endofítico no tecido vegetal, promovendo o crescimento e desenvolvimento de plantas (Zavala-Gonzalez et al., 2015; Ahmed; Monjil, 2019).

A eficiência desses fungos no manejo de nematoides pode ser superior a 70%, principalmente quando se trata de espécies sedentárias, como *Meloidogyne* spp. (Dallemele-Giaretta et al., 2012; Yang et al., 2015) e tais resultados devem-se, especialmente, à atividade quitinolítica, visto que a casca dos ovos dos nematoides é composta principalmente por quitina. O processo de parasitismo está relacionado com a infecção das hifas dos fungos nos tecidos dos ovos e fêmeas sedentárias, que se inicia pela diferenciação do apressório sobre as estruturas dos nematoides, seguida pela secreção de enzimas extracelulares (Morton et al., 2004). Algumas destas enzimas já foram isoladas e identificadas, incluindo as quitinases e proteases, que permitem que os fungos degradem a primeira barreira imposta pelo nematoide, ou seja, a casca dos ovos e a cutícula das fêmeas. Assim, essas enzimas são consideradas indispensáveis para o processo de parasitismo dos fungos aos nematoides, atuando como fatores de virulência (Huang et al., 2004; Yang et al., 2015).

O fato dos nematoides das galhas depositarem os ovos agrupados em uma matriz gelatinosa (massa de ovos) possibilita maior eficiência do parasitismo por esses fungos, uma vez que pode haver também a colonização de toda a massa, causando a destruição total dos ovos, alterando o desenvolvimento embrionário e a eclosão de juvenis de segundo estágio (J2) (Dong et al., 2007; Dallemele-Giaretta et al., 2012). Assim que conseguem vencer a primeira barreira, as hifas de *P. lilacinum* e *P. chlamydosporia* absorvem o conteúdo celular presente nos ovos ou nas fêmeas sedentárias, os quais contêm nutrientes necessários para crescimento e reprodução dos biocontroladores. Dessa forma, inicia-se um novo ciclo

dos fungos, que serão capazes de parasitarem novos indivíduos, reduzindo de forma eficiente a população de nematoides, ciclo após ciclo (Dallemole-Giaretta et al., 2012; Sosa et al., 2018). Trabalhos conduzidos por Miamoto, sob orientação de Dias-Arieira (Universidade Estadual de Maringá, UEM) mostraram, em condições controladas, reduções na reprodução de *M. javanica* em soja variando de 42% a 56% para o tratamento com *P. lilacinum* e de 45% a 72% para *P. chlamydosporia*.

Além da eficiência comprovada para nematoides sedentários, esses fungos também possuem ação sobre nematoides migradores, como *P. brachyurus*. A aplicação de *P. lilacinum* via tratamento de sementes de soja, promoveu reduções na população de *P. brachyurus* variando de 26% a 65%, com aumento de 14,6% na produtividade da cultura no campo (Dias-Arieira et al., 2018). Possivelmente, esta ação se deve, além do parasitismo dos ovos, à produção de substâncias tóxicas, que não foram totalmente identificadas, mas que sugerem a capacidade de imobilizar os juvenis, reduzindo a infecção dos mesmos nas raízes das plantas hospedeiras (Khan et al., 2006). Ainda que menos estudada, a ação por antibiose destes fungos, ou seja, pela produção de substâncias deletérias ao nematoide também foi relatada por alguns autores (Li; Zang, 2014; Sharma et al., 2014).

Outro ponto que potencializa os efeitos de *P. lilacinum* e *P. chlamydosporia* é a capacidade de induzir resistência em plantas, ativando mecanismos de defesas latentes, sendo eficiente mesmo após a infecção desses patógenos (Elsherbiny et al., 2019; Ghahremani et al., 2019). Os fungos ativam rotas metabólicas na planta mediadas pelo ácido salicílico e/ou jasmonato, aumentando as concentrações de proteínas relacionadas à patogênese (PR-proteínas), como β -1,3 glucanase e peroxidase, além de enzimas de defesa vegetal, como fenilalanina amônia-liase e polifenoloxidase (Medeiros et al., 2015; Elsherbiny et al., 2019). Tais compostos são responsáveis por diversos mecanismos de defesa da planta, que prejudicam o sucesso do parasitismo, como quebra de parede celular e alterações na cutícula do nematoide, produção de espécies reativas de oxigênio, reação de hipersensibilidade, síntese de lignina e produção de compostos fenólicos e fitoalexinas.

Não obstante, estes fungos estabelecem relações benéficas com a planta, podendo auxiliar na absorção de nutrientes pelas raízes, melhorando a capacidade de desenvolvimento do vegetal e aumentando a resistência contra estresses bióticos e abióticos, o que pode levar à melhor performance das plantas em relação ao ataque de nematoides. Na soja, por exemplo, a aplicação de *P. chlamydosporia* promoveu aumento de, aproximadamente, 46% na concentração de fósforo e 69% no teor de potássio acumulado nas folhas.

Na ausência de nematoides, *P. lilacinum* e *P. chlamydosporia* podem sobreviver no solo de forma saprofítica, uma vez que ambos utilizam a matéria orgânica como fonte de alimento. Isto confere a eles maior capacidade de estabelecimento e permanência no solo, criando uma vantagem em relação à população de nematoides, que necessita do hospedeiro vivo para se multiplicar (Lopez-Lima et al., 2014). Pesquisas recentes conduzidas por Dias-Arieira e colaboradores na UEM, mostram reduções de 72% na reprodução de *M. javanica* quando a soja foi tratada com *P. lilacinum* e cultivada sob palhada de braquiária, se comparada a plantas que receberam apenas o resíduo vegetal, alcançando controle de 98% se comparada àquelas que receberam somente o agente de biocontrole. Na soja tratada com o mesmo fungo, sob palhada de aveia houve reduções de 55% e 66% na reprodução do nematoide se comparados ao uso isolado da palhada e do controle biológico, respectivamente. As palhadas de milheto e trigo

mourisco também podem ser benéficas no estabelecimento do fungo aplicado via tratamento de sementes de soja. De forma semelhante, a interação entre o fungo *P. chlamydosporia* e resíduos orgânicos mostrou ser vantajosa, com reduções de 23% e 62% na população de *M. javanica* em soja, em relação à respectiva aplicação isolada de palhada e do fungo.

Outro fungo que merece destaque entre os biocontroladores é o gênero *Trichoderma*. São conhecidas 254 espécies de *Trichoderma*, mas apenas 4% delas são utilizadas no controle biológico. Entre aqueles com aptidão para controle biológico, *T. harzianum* aparece na maioria dos produtos comercializados, sendo encontrado em quase 40% dos produtos sem mistura de microrganismos e em mais de 60% dos produtos com mistura de fungos, bactérias e micorrizas; *T. viridae* ocupa a segunda colocação, seguido de *T. atroviridae*, *T. asperellum* e *Trichoderma* spp. (Bettiol et al., 2019).

Mesmo com apenas 4% das espécies de *Trichoderma* utilizadas para controle biológico, estas representam cerca de 90% dos agentes fúngicos empregados para essa finalidade (Sood et al., 2020). *Trichoderma* spp. possuem comportamento antagonista direto contra vários organismos fitopatogênicos, incluindo bactérias, nematoides e, especialmente, fungos, ou indireto, promovendo o crescimento e vigor das plantas e aumentando a tolerância a estresses, auxiliando na absorção de nutrientes e na biorremediação da rizosfera, e disponibilizando às plantas metabólitos secundários, enzimas e proteínas relacionadas à patogênese (PR-proteínas) (Kumar, 2013). Essa versatilidade de *Trichoderma* spp. é conferida, em grande parte, pelo seu oportunismo, que garante elevada capacidade de colonização da rizosfera das plantas, nos mais diversos ambientes. Além disso, podem produzir estruturas de resistência, chamadas de clamidósporos e microescleródios, que permitem sua sobrevivência em condições adversas (Monte et al., 2019).

Diversos mecanismos podem estar envolvidos no modo de ação de *Trichoderma* spp. sobre nematoides, diretamente pelo parasitismo, antibiose, paralisia e produção de enzimas líticas (Poveda et al., 2020). Entretanto, entre os mecanismos envolvidos, talvez o principal seja a indução de resistência, conferida pela colonização das raízes das plantas por espécies de *Trichoderma*.

Essa colonização não causa nenhum dano à planta, mas induz mudanças na fisiologia e no sistema de defesa da mesma (Martínez-Medina et al., 2013). Essas mudanças podem estar associadas com uma estratégia de regulação da planta para limitar a colonização microbiana desse “invasor benéfico”. Portanto, durante essa “infecção” das raízes, a planta limita a colonização endofítica de *Trichoderma* spp. e, após esse processo de defesa inicial, a expressão de genes relacionados à defesa e à atividade antimicrobiana da planta retornam aos níveis pré-infecionais, o que proporciona um ambiente favorável ao desenvolvimento de *Trichoderma* spp. como endossimbiontes avirulentos à planta, garantindo benefícios a ambos os organismos, uma vez que o fungo obtém compostos orgânicos e um local para desenvolvimento, mas disponibiliza à planta nutrientes e fornece proteção contra outros fitopatogênicos (Martínez-Medina et al., 2013).

Após o ataque de nematoides sedentários, formadores de tecidos de alimentação, a reação local da planta é a morte programada de células, chamada de reação de hipersensibilidade, seguida de uma resposta sistêmica que impede a infecção dos demais tecidos da planta ainda não infectados pelo patógeno; essa resposta sistêmica é chamada de resistência sistêmica adquirida (SAR), mediada por compostos derivados de ácido salicílico (Martínez-Medina et al., 2017). Para nematoides migradores, a reação da planta é

conhecida como resistência sistêmica induzida (SIR), regulada por ácido jasmônico e etileno. *Trichoderma* spp. estão entre os fungos benéficos com maior capacidade de biocontrole por induzir SIR, pela secreção de moléculas que facilitam a colonização e contribuem para a simbiose (Poveda et al., 2020).

A presença de *Trichoderma* sp. estimula a defesa inicial da planta mediada por ácido salicílico, o que protege as raízes contra a penetração dos nematoides. Trabalhos mostram que *M. incognita* consegue suprimir a defesa da planta desencadeada por ácido jasmônico em seus estádios posteriores de desenvolvimento, como durante a alimentação nos tecidos nutritivos e reprodução. *Trichoderma* sp. estimula os mecanismos de defesa dependentes de ácido jasmônico no período posterior à infecção, portanto antagonizando a supressão da defesa causada por *Meloidogyne*, o que leva à redução do desenvolvimento e multiplicação do nematoide, porém não afetando sua capacidade de penetrar as raízes (Medeiros et al., 2017). Deste modo, redução no número de ovos e atraso no processo de embriogênese já foram relatados em vários trabalhos em que se estudou a relação de *Meloidogyne* spp. em diferentes espécies de plantas, na presença de *Trichoderma* spp. (Naserinasab et al., 2011; Medeiros et al., 2017; Pocurull et al., 2020), sugerindo que o mecanismo de defesa mediado por ácido jasmônico tem papel determinante no parasitismo desses nematoides (Martínez-Medina et al., 2017). Na cultura da soja, isolados de *Trichoderma* aumentaram a atividade da enzima catalase, promovendo ainda atraso na penetração e redução da reprodução de *P. brachyurus* (Kath et al., 2017).

Entretanto, se o parasitismo for estabelecido, a planta aumenta a expressão de genes relacionados à ativação de mecanismos de defesa mediados por ácido salicílico, provavelmente devido ao reconhecimento dos ovos ou das massas de ovos (Hilker; Fatouros, 2015). *Trichoderma* sp. mostrou-se capaz de ajustar as diferentes respostas de defesa reguladas por hormônios, dependendo do estágio de infecção por *M. incognita*, o que pode contribuir na defesa das raízes contra a invasão da segunda geração de juvenis do nematoide recém-eclodidos (Martínez-Medina et al., 2017).

A indução de resistência em plantas desencadeada por *Trichoderma* spp. pode, ainda, potencializar as respostas bioquímicas e moleculares das plantas, gerando um pré-condicionamento contra subsequentes infecções por patógenos, o chamado efeito “priming” (Pascholati et al., 2019). Esse fenômeno permite que o mecanismo de resistência das plantas seja ativado de maneira mais rápida e efetiva quando em contato com diferentes patógenos, pois funciona como um “acervo” de diversos estresses. O efeito “priming” já foi relatado como transgeracional, ou seja, quando plantas parentais são pré-condicionadas, as plantas da próxima geração apresentam resistência a patógenos e, inclusive, herdam a promoção de crescimento induzida por *Trichoderma* spp. (Medeiros et al., 2017).

Além da indução de resistência, *Trichoderma* spp. atuam no controle de nematoides pela produção de metabólitos secundários, que proporcionam redução na eclosão e elevada mortalidade de juvenis de *M. incognita* em condições *in vitro*. *Trichoderma* spp. também podem atuar na competição por espaço e nutrientes na rizosfera das plantas, uma vez que apresentam capacidade de colonizar a rizosfera (Vargas et al., 2009), o que pode apresentar elevado potencial para o controle biológico de nematoides.

O parasitismo de ovos e juvenis de nematoides também é atribuído a *Trichoderma* spp., pela produção de enzimas extracelulares, como quitinases e proteases, que degradam a parede dos ovos, permitindo a penetração de hifas do fungo e inviabilizando a eclosão dos juvenis (Zhang et al., 2017). Esse efeito de

parasitismo de ovos e juvenis é verificado especialmente quando *Trichoderma* sp. é aplicado diretamente no solo e não quando o fungo entra em contato com o nematoide no sistema radicular das plantas (Sharon et al., 2001). Em condições *in vitro*, isolados de *Trichoderma* sp. produzem hifas ao redor do corpo dos juvenis de *Meloidogyne* sp., sendo capaz de penetrar através da cutícula do nematoide; ovos recém produzidos também são colonizados pelas hifas do fungo nessas condições, que podem, inclusive, penetrar nas massas de ovos para encontrar os ovos em seu interior, mas o parasitismo em ovos mais velhos parece não ocorrer (Sharon et al., 2001).

Apesar das inúmeras pesquisas visando o manejo de nematoides sedentários, a aplicação do fungo via tratamento de sementes de soja foi eficiente em reduzir a reprodução de *P. brachyurus* em 65,5%, além de garantir ganho de 21% na produtividade da cultura (Dias-Arieira et al., 2018). Em adição, estudos conduzidos na UEM entre os anos de 2015 a 2020 apontaram para reduções entre 66% a 82% na reprodução deste nematoide em soja tratada com *P. lilacinum* + *T. harzianum*.

Além dos fungos, as bactérias destacam-se entre os agentes de biocontrole com eficiência comprovada para o manejo de nematoides. Este grupo de organismos compreende dezenas de gêneros com potencial econômico, mas a maioria dos produtos comerciais é à base de *Bacillus* spp., com registro junto ao MAPA de mais de 30 produtos contendo espécies dentro deste gênero (Mapa, 2022). Por serem integrantes do grupo de bactérias Gram positivas, *Bacillus* spp. podem formar esporos (endósporos), o que é vantajoso quando se pensa no tempo de prateleira do produto, bem como na aplicação em condições adversas.

Em geral, as bactérias do gênero *Bacillus* não são consideradas parasitas de nematoides, mas apresentam múltiplas formas de ação, que conferem às cepas elevada eficiência e versatilidade de uso. Entre os principais mecanismos de ação destes organismos destacam-se antibiose, formação de biofilme metabolicamente ativo no rizoplano, competição por sítio de penetração, alteração da rizosfera, promoção de crescimento de plantas e indução de resistência.

A antibiose é citada como o método de ação mais comum entre *Bacillus* spp. e é caracterizada pela produção e liberação de uma série de substâncias no solo, que podem ter ação sobre os nematoides por interferir no desenvolvimento embrionário, afetando a formação do J2 ou sua eclosão. Também podem atuar sobre as formas móveis, interferindo no processo de movimentação e penetração nas raízes. Dentre as substâncias já identificadas neste processo, destacam-se as enzimas hidrolíticas, como proteases degradadoras de cutícula, quitinases e colagenases (Lian et al., 2007; Soliman et al., 2019).

Outro mecanismo comumente envolvido no controle de nematoides fitopatogênicos é a competição. Caracteristicamente *Bacillus* spp. colonizam o rizoplano e crescem associados às raízes, estimulados pelos exsudatos radiculares, formando uma barreira físico-química, composta por bactérias e pelas substâncias por elas liberadas (Hashem et al., 2019). O controle de nematoides por este mecanismo de ação depende da eficiência da bactéria em colonizar rapidamente as raízes, de forma que, no processo de penetração, antes de tentar vencer as barreiras impostas pela planta, os nematoides também tenham que superar esta outra, composta pelas bactérias. Em adição, além da barreira física, substâncias como exotoxinas e antibióticos produzidas por estes procariotos se distribuem pela rizosfera (Kavitha et al., 2012; Hu et al., 2017; Abd-El-Khair et al., 2019) e, como já citado na antibiose, prejudicam as atividades metabólicas dos nematoides, atuando sobre diferentes constituintes químicos destes, nos diversos estádios de desenvolvimento.

O crescimento das colônias bacterianas na rizosfera leva à alteração dos exsudatos radiculares, visto que as bactérias podem se alimentar de substâncias liberadas pelas plantas e, por sua vez, liberam metabólitos secundários no solo, o que altera a composição da rizosfera (Dutta et al., 2013; Hu et al., 2017), interferindo no processo de reconhecimento do hospedeiro pelos nematoides (Hu et al., 2017), o qual é estimulado pelo gradiente de concentração de exsudatos radiculares produzidos pela planta hospedeira.

Além destes modos de ação, *Bacillus* spp. podem atuar sobre a planta promovendo maior resistência ao ataque de nematoides por dois mecanismos básicos. O primeiro é a promoção do crescimento vegetal, visto que as principais espécies de *Bacillus* aplicadas no controle de nematoides são consideradas rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (PGPR). Elas colonizam os vegetais de forma endofítica ou associativa e induzem a produção de reguladores de crescimento, especialmente fitohormônios, os quais levam ao maior desenvolvimento de raízes e parte aérea, além de promover outros efeitos benéficos sobre a planta, incluindo regulação na fixação de nitrogênio, síntese de ácido indol-acético (AIA), solubilização de fosfatos e redução da evapotranspiração (Santos et al., 2018). Este aumento no desenvolvimento do sistema radicular pode apresentar um efeito compensatório, pois mesmo que os nematoides infectem as raízes, haverá uma quantidade delas sadias para absorver água e nutrientes de forma eficiente. Sabe-se ainda que PGPR's, incluindo os *Bacillus*, podem modular as características do sistema radicular, influenciando a arquitetura e o crescimento das raízes (Grover et al., 2021).

Por outro lado, é importante estar atento ao fato de que, em plantas com sistema radicular abundante, os nematoides não precisam competir entre si por sítio de penetração, o que pode levar a um aumento das populações do parasita. Por isso, é recomendável que, em avaliações de eficiência de *Bacillus* para o controle de nematoides, seja analisada a população total, que pode ser maior nas plantas tratadas, em função da maior quantidade de raiz, e a densidade populacional, ou seja, o número de nematoides por grama de raiz, que mostrará o real efeito do produto.

Além de promover crescimento de plantas, *Bacillus* spp. destacam-se como indutores de resistência, ativando principalmente os genes envolvidos na expressão da SIR (Choudhary; Johri, 2009; Adam et al., 2014; Xing et al., 2020), cujos mecanismos e efeitos fenotípicos são similares ao que já foi discutido para *Trichoderma* spp.

É possível que, dentro de alguns anos, o mercado de nematicidas biológicos à base de *Bacillus* spp. contará com mecanismos de ação inovadores, oriundos de endotoxinas conhecidas como proteínas cristais (*Cry proteins*), produzidas pelas cepas de *B. thuringiensis*. Centenas de pesquisas têm mostrado o potencial nematicida destas substâncias, especialmente as proteínas com menores pesos moleculares, que permitem que as mesmas sejam ingeridas, por meio do estilete do nematoide, causando colapso do sistema digestivo (Wei et al., 2003; Zhang et al., 2012). É esperado que o uso destas proteínas ocorra por meio de plantas transgênicas, cuja tecnologia já tem sido aplicada há anos para o manejo de insetos.

Outra bactéria comercialmente usada no Brasil é *Pasteuria nishizawae*, cujo registro é restrito para o controle do nematoide de cisto da soja. As bactérias do gênero *Pasteuria* são caracterizadas como parasitas obrigatórios de nematoides com alta especificidade, ou seja, estes organismos não apresentam atividade saprofítica no solo e alimentam-se exclusivamente de nematoides. Além disso, cada espécie dentro do gênero tem capacidade de controlar especificamente determinado nematoide. Por exemplo, *P. nishizawae*

parasita o nematoide de cisto, enquanto *P. penetrans* e *P. thornei* parasitam nematoides das galhas e das lesões radiculares, respectivamente; no entanto, ainda não há registros de produtos compostos por estas duas últimas espécies no Brasil.

Estas bactérias são consideradas altamente evoluídas para o parasitismo. Elas são introduzidas no solo por meio de esporos, os quais se aderem ao corpo dos nematoides durante a movimentação dos estádios infectantes. Tais esporos permanecem em repouso até que o nematoide inicie o processo de alimentação, quando, então, emitem um tubo germinativo que penetra a cutícula e crescem no interior do corpo do nematoide, formando microcolônias vegetativas, retirando os nutrientes necessários para o desenvolvimento (Davies et al., 1988). Ao colonizar o interior do nematoide, a bactéria compromete a reprodução, podendo haver destruição total do aparelho reprodutor no processo de parasitismo. Além disso, quando o número de esporos aderidos ao corpo do nematoide é elevado, a movimentação das formas infectantes em direção às raízes é dificultada, aumentando o gasto de energia, podendo então suprimir a penetração dos nematoides.

Pasteuria spp. apresentam como vantagens o fato de formar esporos altamente resistentes, que aumentam o tempo de prateleira e facilitam a aplicação, além do fato de que tais estruturas podem persistir no solo entre os ciclos de cultivos. Por outro lado, elas apresentam algumas limitações, como a imobilidade no solo e a ausência de atividade saprofítica, fazendo com que a população do biocontrolador seja determinada pela presença de nematoides.

Além das bactérias citadas, outras têm se destacado como promissoras para o mercado futuro, como *Pseudomonas* spp., que são bactérias saprófitas, Gram negativas, sendo caracterizadas como PGPR. Algumas cepas de espécies de *Pseudomonas* constituem formulações de bioprodutos comerciais, registrados e comercializados no exterior, com comprovada ação fungicida e bactericida (Bettiol et al., 2019). Todavia, no Brasil ainda não há registros de produtos bionematicidas contendo o microrganismo (Mapa, 2022). Algumas espécies de *Pseudomonas*, como *P. fluorescens*, *P. aeruginosa* e *P. protegens* já demonstraram controle de nematoides fitoparasitas (Seenivasan et al., 2012; Lax et al., 2013; Tavakol-Norabadi et al., 2014; Khan et al., 2016).

Pseudomonas fluorescens é capaz de destruir a matriz gelatinosa de ovos de nematoides e diminuir a eclosão dos juvenis (Tavakol-Norabadi et al., 2014). Tais bactérias produzem vários compostos, como antibióticos, sideróforos e AIA e algumas cepas ainda podem induzir resistência. Misturas de cepas podem ainda potencializar o controle dos nematoides, em decorrência da intensa colonização das raízes, coexistindo de forma sinérgica, além de aumentar as atividades de peroxidases e quitinases, que reduzirá o parasitismo e a formação das galhas (Seenivasan et al., 2012). Um outro modo de ação está relacionado à clivagem do precursor do etileno, que inibirá a produção do hormônio, importante no desenvolvimento de galhas em raízes infectadas por *Meloidogyne* (Glazer et al., 1985).

No que tange aos aspectos práticos do uso de bactérias para o controle de nematoides, uma questão recorrente é em relação a qual (ou quais) espécies são mais eficientes. Contudo, esta pergunta não tem uma resposta exata, pois o que determina a eficiência destes organismos, bem como dos fungos apresentados, é a cepa e não a espécie em si. Como mencionado, o Brasil possui mais de 40 nematicidas biológicos registrados e estes envolvem diferentes cepas das espécies *Bacillus subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B.*

firmus, *B. licheniformis*, *B. methylotrophicus* e *B. velezensis*. Os produtos podem apresentar cepas únicas ou misturas de cepas de uma ou mais espécies da bactéria, ou mistura com outros agentes de biocontrole, como os fungos do gênero *Trichoderma* e *P. lilacinum*.

Para o registro de produtos à base de cepas isoladas ou misturas de microrganismos, são feitos testes rigorosos que visam garantir que o mesmo apresente eficiência frente às populações de nematoides. Além da empresa detentora do registro, o MAPA exige que instituições públicas e privadas atestem a eficiência. Em tais avaliações, além da eficiência nematicida, são analisadas características agrônomicas como a possibilidade de causar fitotoxidez às plantas ou de inibir a nodulação por rizóbio, o que é muito importante quando se trata de uso em espécies leguminosas. Este ponto é importante de ser ressaltado, pois muitas vezes o produtor opta por misturas de produtos biológicos durante o tratamento *on farm*, partindo do pressuposto que a mistura de dois produtos terá sempre efeito aditivo na eficiência para o controle de nematoides. Porém, esta hipótese apresenta diversas possibilidades de erro, visto que, da mesma forma que algumas substâncias produzidas por estes microrganismos apresentam efeito nematicida, elas podem atuar sobre outros biocontroladores, inibindo uns aos outros e, conseqüentemente, sendo inócuos ao nematoide. Assim, recomenda-se que toda mistura sem registro no MAPA seja previamente avaliada ou evitada.

Atualmente, o mercado dispõe de bionematicidas para aplicação em tratamento de sementes e sulco de semeadura e, em ambos os casos, objetiva-se dar ao agente de biocontrole vantagem competitiva em relação aos nematoides. É importante lembrar que os nematoides migram em direção ao hospedeiro e infectam as plantas logo após a emergência das primeiras raízes. Por isso, o cuidado com a eficiência na aplicação, bem como conhecer as condições edafoclimáticas e as práticas culturais adotadas é importante para escolha correta do produto. Vale ainda lembrar que a aplicação de produtos biológicos requer cuidados específicos para manter a máxima viabilidade dos organismos vivos e, desta forma, sempre que possível, deve ser assistida por um profissional especializado.

Apesar da literatura ainda apresentar carência de informações quanto ao uso do controle biológico dentro do manejo integrado, pesquisas desenvolvidas pela equipe da UEM, apontaram para a eficiência do uso de *Bacillus* associado a plantas de cobertura, visando o controle de nematoides na soja. O tratamento de sementes de braquiária com *Bacillus* spp., por exemplo, promoveu controle de, aproximadamente, 50% na reprodução de *P. brachyurus* na soja cultivada em sucessão às braquiárias brizanta e ruzizensis. *Bacillus subtilis*, introduzido via tratamento de sementes de plantas de cobertura, como milho e *Crotalaria ochroleuca*, também apresentou residual no controle de *P. brachyurus* na soja introduzida na sequência superior a 55%. Para tais resultados, há a hipótese de que o sistema radicular abundante das plantas de cobertura possibilita ampla colonização pela bactéria e, conseqüentemente, a dispersão das mesmas no perfil do solo, com destaque para a braquiária.

Apesar das bactérias do gênero *Bacillus* e dos fungos com atividade saprofítica serem beneficiados pela matéria orgânica oriunda de plantas de cobertura, é importante destacar que nem toda associação é benéfica, havendo casos de efeito neutro ou, até mesmo, negativo, para alguns estudos envolvendo espécies de crotalaria e agentes de biocontrole. Além disso, as pesquisas conduzidas em condições controladas, precisam ser validadas no campo.

Considerações Finais

O controle biológico no Brasil tem tendência de grande crescimento, uma vez que o número de produtos registrados no MAPA tem aumentado a cada ano. Além disso, a diversidade de organismos e modos de ação, além das pesquisas constantes para desenvolvimento de formulações mais estáveis e com maior tempo de prateleira, faz com que o mercado brasileiro aquecido encontre ampla aceitação por parte dos agricultores. As pesquisas têm evoluído também para a busca de novos organismos e para a caracterização de substâncias secundárias produzidas por estes, para comporem formulações inovadoras e com amplo efeito de controle de nematoides.

Pesquisas quanto à aplicação de agentes biológicos dentro do sistema de manejo integrado, especialmente associado ao controle cultural, devem ser intensificadas, a fim de melhorar o potencial de controle de nematoides e reduzir os riscos de erro em áreas com problemas acentuados de nematoides, especialmente em solos degradados, nos quais o uso de cobertura assume grande importância na recuperação da fertilidade dos solos.

Referências

- ABD-EL-KHAIR, H.; EL-NAGDI, W. M. A.; YUSSEF, M. M. A.; ABD-ELGAWAD, M. M. M.; DAWOOD, M. G. Protective effect of *Bacillus subtilis*, *B. pumilus*, and *Pseudomonas fluorescens* isolates against root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on cowpea. *Bulletin of the National Research Centre*, v. 43, n. 64, p. 1-7, 2019.
- ADAM, M.; HEUER, H.; HALLMANN, J. Bacterial antagonists of fungal pathogens also control root-knot nematodes by induced systemic resistance of tomato plants. *PLoS ONE*, v. 9, n. 2, e90402, 2014.
- AHMED, S.; MONJIL, M. Effect of *Paecilomyces lilacinus* on tomato plants and the management of root-knot nematodes. *Journal of Bangladesh Agricultural University*, v. 17, n. 1, p. 9-13, 2019.
- BETTIOL, W.; PINTO, Z. V.; SILVA, J. C.; FORNER, C.; FARIA, M. R.; PACÍFICO, M. G.; COSTA, L. S. A. S. Produtos comerciais à base de *Trichoderma*. In: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. (Eds.). *Trichoderma: uso na agricultura*. Brasília, DF: Embrapa, 2019. p. 45-160.
- CHOUDHARY, D. K.; JOHRI, B. N. Interactions of *Bacillus* spp. and plants with special reference to induced systemic resistance (ISR). *Microbiological Research*, v. 164, n. 5, p. 493-513, 2009.
- DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A.; PEREIRA, O. I.; ZOOCA, R. J. F.; FERRAZ, S. Screening of *Pochonia chlamydosporia* Brazilian isolates as biocontrol agents of *Meloidogyne javanica*. *Journal of Crop Protection*, v. 42, n. 1, p. 102-107, 2012.
- DAVIES, K. G.; KERRY, B. R.; FLYNN, C. A. Observations on the pathogenicity of *Pasteuria penetrans*, a parasite of root-knot nematodes. *Annals of Applied Biology*, v. 112, p. 1491-1501, 1988.
- DIAS-ARIEIRA, C. R.; ARAÚJO, F. G.; KANEKO, L.; SANTIAGO, D. C. Biological control of *Pratylenchus brachyurus* in soya bean crops. *Journal of Phytopathology*, v. 166, n. 10, p. 722-728, 2018.
- DONG, L.; YANG, J.; ZHANG, K. Cloning and phylogenetic analysis of the chitinase gene from the facultative pathogen *Paecilomyces lilacinus*. *Journal of Applied Microbiology*, v. 103, n. 6, p. 2476-2488, 2007.
- DUTTA, S.; RANI, T. S.; PODILE, A. R. Root exudate-induced alterations in *Bacillus cereus* cell wall contribute to root colonization and plant growth promotion. *Plos One*, v. 8, n. 10, e78369, 2013.
- ELSHERBINY, A. A.; TAHER, M. A.; MAHMOUD, F. E. Activity of *Purpureocillium lilacinum* filtrates on biochemical characteristics of *Sclerotinia sclerotiorum* and induction of defense responses in common bean. *European Journal of Plant Pathology*, v. 155, n. 1, p. 39-52, 2019.
- GHAHREMANI, Z.; ESCUDERO, N.; SAUS, E.; GABALDÓN, T.; SORRIBAS, F. J. *Pochonia chlamydosporia* induces plant-dependent systemic resistance to *Meloidogyne incognita*. *Frontiers in Plant Science*, v. 10, n. 1, p. 1-8, 2019.
- GLAZER, I.; APELBAUM, A.; ORION, D. Effect of inhibitors and stimulators of ethylene production on gall development in *Meloidogyne javanica* infected tomato roots. *Journal of Nematology*, v. 17, n. 2, p. 145-149, 1985.

- GROVER, M.; BODHANKAR, S.; SHARMA, A.; SHARMA, P.; SINGH, J.; NAIN, L. PGPR mediated alterations in root traits: way toward sustainable crop. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, v. 4, e618230, 2021.
- HASHEM, A.; TABASSUM, B.; ABD-ALLAH, E. F. *Bacillus subtilis*: a plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. *Saudi Journal of Biological Sciences*, v. 26, n. 6, p. 1291-1297, 2019.
- HASSAN, M. A.; PHAM, T. H.; SHI, H.; ZHENG, J. Nematodes threats to global food security. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B: Soil and Plant Science*, v. 63, n. 5, p. 420-425, 2013.
- HILKER, M.; FATOUROS, N. E. Plant responses to insect egg deposition. *Annual Review of Entomology*, v. 60, p. 493-515, 2015.
- HU, H. J.; CHEN, Y. L.; WANG, Y. F.; TANG, Y. Y.; CHEN, S. L.; YAN, S. Z. Endophytic *Bacillus cereus* effectively controls *Meloidogyne incognita* on tomato plants through rapid rhizosphere occupation and repellent action. *Plant Disease*, v. 101, n. 3, p. 448-455, 2017.
- HUANG, X.; ZHAO, N.; ZHANG, K. Extracellular enzymes serving as virulence factors in nematophagous fungi involved in infection of the host. *Research in Microbiology*, v. 155, n. 10, p. 811-816, 2004.
- KAVITHA, P. G.; JONATHAN, E. I.; NAKKEERAN, S. Effects of crude antibiotic of *Bacillus subtilis* on hatching of eggs and mortality of juveniles of *Meloidogyne incognita*. *Nematologia Mediterranea*, v. 40, n. 2, p. 203-206, 2012.
- KHAN, A.; WILLIAMS, K. L.; NEVALAINEN, H. K. M. Infection of plantparasitic nematodes by *Paecilomyces lilacinus* and *Monacrosporium lysipagum*. *BioControl*, v. 51, n. 1, p. 659-678, 2006.
- KHAN, M. R.; MOHIDIN, F. A.; KHAN, U.; AHAMAD, F. Native *Pseudomonas* spp. suppressed the root-knot nematode *in vitro* and *in vivo*, and promoted the nodulation and grain yield in the field grown mungbean. *Biological Control*, v. 101, n. 2016, p. 159-168, 2016.
- KUMAR, S. *Trichoderma*: A biological weapon for managing plant diseases and promoting sustainability. *International Journal of Agricultural Science and Medicine Veterinary*, v. 1, n. 3, p. 106-121, 2013.
- LAX, P.; MARRO, N.; AGARAS, B.; VALVERDE, C.; DOUCET, M. E.; BECERRA, A. Biological control of the false root-knot nematode *Nacobbus aberrans* by *Pseudomonas protegens* under controlled conditions. *Crop Protection*, v. 52, n. 2013, p. 97-102, 2013.
- LI, G. H.; ZHANG, K. Q. Nematode-toxic fungi and their nematocidal metabolites. In: ZHANG, K. Q.; HYDE, K. D. (Eds.). *Nematode-trapping fungi*. Dordrecht: Springer, 2014. p. 313-375.
- LIAN, L. H.; TIAN, B. Y.; XIONG, R.; ZHU, M. Z.; XU, J.; ZHANG, K. Q. Proteases from *Bacillus*: a new insight into the mechanism of action for rhizobacterial suppression of nematode populations. *Letter Applied of Microbiology*, v. 43, n. 3, p. 262-269, 2007.
- LOPEZ-LIMA, D.; CARRION, G.; NÚÑEZ-SÁNCHEZ, A. E. Isolation of fungi associated with *Criconemoides* sp. and their potential use in the biological control of ectoparasitic and semiendoparasitic nematodes in sugar cane. *Australian Journal of Crop Science*, v. 8, n. 3, p. 389-396, 2014.
- MAPA. **Agrofit**: consulta aberta. 2022. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agro_fit_cons>. Acesso em: 02 fev. 2022.
- MARTÍNEZ-MEDINA, A.; FERNÁNDEZ, I.; SÁNCHEZ-GUZMÁN, M. J.; JUNG, S. C.; PASCUAL, J. A.; POZO, M. J. Deciphering the hormonal signalling network behind the systemic resistance induced by *Trichoderma harzianum* in tomato. *Frontiers in Plant Science*, v. 4, e206, 2013.
- MARTÍNEZ-MEDINA, A.; FERNÁNDEZ, I.; LOK, G. B.; POZO, M. J.; PIETERSE, C. M.; VAN WEES, S. C. Shifting from priming of salicylic acid-to jasmonic acid-regulated defences by *Trichoderma* protects tomato against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *New Phytologist*, v. 213, n. 3, p. 1363-1377, 2017.
- MEDEIROS, H. A.; ARAÚJO FILHO, J. V.; FREITAS, L. G.; CASTILLO, P.; RUBIO, M. B.; HERMOSA, R.; MONTE, E. Tomato progeny inherit resistance to the nematode *Meloidogyne javanica* linked to plant growth induced by the biocontrol fungus *Trichoderma atroviridae*. *Scientific Reports*, v. 7, e40216, 2017.
- MEDEIROS, H. A.; RESENDE, R. S.; FERREIRA, F. C.; FREITAS, L. G.; RODRIGUES, F. Á. Induction of resistance in tomato against *Meloidogyne javanica* by *Pochonia chlamydosporia*. *Nematoda*, v. 2, n. 1, p. 1-7, 2015.
- MONTE, E.; BETTIOL, W.; HERMOSA, R. *Trichoderma* e seus mecanismos de ação para o controle de doenças de plantas. In: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. (Eds.). *Trichoderma*: uso na agricultura. Brasília, DF: Embrapa, 2019. p. 181-199.
- MORTON, O. C.; HIRSCH, P. R.; KERRY, B. R. Infection of plant-parasitic nematodes by nematophagous fungi - a review of the application of molecular biology to understand infection process and to improve biological control. *Nematology*, v. 6, n. 1, p. 161-170, 2004.
- NASERINASAB, F.; SAHEBANI, N.; ETEBARIAN, H. R. Biological control of *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum* BI and salicylic acid on tomato. *African Journal of Food Science*, v. 5, n. 3, p. 276-328, 2011.
- PASCHOLATI, S. F.; SOUZA, V. H. M.; CARDOSO FILHO, J. A. Indução de resistência por *Trichoderma*. In: MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. (Eds.). *Trichoderma*: uso na agricultura. Brasília, DF: Embrapa, 2019. p. 235-252.

- POCURELL, M.; FULLANA-PONS, A. M.; FERRO, M.; VALERO, P.; ESCUDERO, N.; SAUS, E.; GABALDÓN, T.; SORRIBAS, F. J. Commercial formulations of *Trichoderma* induce systemic plant resistance to *Meloidogyne incognita* in tomato and the effect is additive to that of Mi-1.2 resistance gene. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, article 3042, 2020. DOI: 10.3389/fmicb.2019.03042.
- POVEDA, J.; ABRIL-URIAS, P.; ESCOBAR, C. Biological control of plant-parasitic nematodes by filamentous fungi inducers of resistance: *Trichoderma*, mycorrhizal and endophytic fungi. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, e992, 2020.
- KATH, J.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; FERREIRA, J. C. A.; HOMIAK, J. A.; SILVA, C. R.; CARDOSO, C. R. Control of *Pratylenchus brachyurus* in soybean with *Trichoderma* spp. and resistance inducers. **Journal of Phytopathology**, v. 165, p. 791-799, 2017.
- SANTOS, M. L.; BERLITZ, D. L.; WIEST, S. L. F.; SCHÜNEMANN, R.; KNAACK, N. Benefits associated with the interactions of endophytic bacteria and plants. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 61, e18160431, 2018.
- SEENIVASAN, N.; DAVID, P. M. M.; VIVEKANANDAN, P.; SAMIYAPPAN, R. Biological control of rice root-knot nematode, *Meloidogyne graminicola* through mixture of *Pseudomonas fluorescens* strains. **Biocontrol Science and Technology**, v. 22, n. 6, p. 611-632, 2012.
- SHARMA, A.; SHARMA, S.; DALELA, M. Nematicidal activity of *Paecilomyces lilacinus* 6029 cultured on Karanja cake medium. **Microbial Pathogenesis**, v. 75, p. 16-20, 2014.
- SHARON, E.; BAR-EYAL, M.; CHET, I.; HERRERA-ESTRELLA, A.; KLEIFELD, O.; SPIEGEL, Y. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. **Phytopathology**, v. 91, n. 7, p. 687-693, 2001.
- SOOD, M.; KAPOOR, D.; KUMAR, V.; SHETIWIY, M. S.; RAMAKRISHNAN, M.; LANDI, M.; ARANITI, F.; SHARMA, A. *Trichoderma*: The “secrets” of a multitalented biocontrol agent. **Plants**, v. 9, n. 6, e962, 2020.
- SOLIMAN, G. M.; AMEEN, H. H.; ABDEL-AZIZ, S. M.; EL-SAYED, G. M. *In vitro* evaluation of some isolated bacteria against the plant parasite nematode *Meloidogyne incognita*. **Bulletin of the National Research Centre**, v. 43, e171, 2019.
- SOSA, A. L.; ROSSO, L. C.; SALUSSO, F. A.; ETCHEVERRY, M. G.; PASSONE, M. A. Screening and identification of horticultural soil fungi for their evaluation against the plant parasitic nematode *Nacobbus aberrans*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 34, n. 63, p. 1-12, 2018.
- TAVAKOL-NORABADI, M. T.; SAHEBANI, N.; ETEBARIAN, H. R. Biological control of root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) disease by *Pseudomonas fluorescens* (Chao). **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 47, n. 5, p. 615-621, 2014.
- XING, Z.; WU, X.; ZHAO, J.; ZHAO, X.; ZHU, X.; WANG, Y.; FAN, H.; CHEN, L.; LIU, X.; DUAN, Y. Isolation and identification of induced systemic resistance determinants from *Bacillus simplex* Sneb545 against *Heterodera glycines*. **Scientific Reports**, v. 10, e11586, 2020.
- VARGAS, W. A.; MANDAWA, J. C.; KENERLEY, C. M. Plant-derived sucrose is a key element in the symbiotic association between *Trichoderma virens* and maize plants. **Plant Physiology**, v. 151, n. 2, p. 792-808, 2009.
- WEI, J. Z.; HALE, K.; CARTA, L.; PLATZER, E.; WONG, C.; FANG, S. C.; AROIAN, R. V. *Bacillus thuringiensis* crystal proteins that target nematodes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, n. 5, p. 2760-2765, 2003.
- YANG, F.; ABDELNABBY, H.; XIAO, Y. The role of a phospholipase (PLD) in virulence of *Purpureocillium lilacinum* (*Paecilomyces lilacinum*). **Microbial Pathogenesis**, v. 85, n. 1, p. 11-20, 2015.
- ZAVALA-GONZALEZ, E. A.; ESCUDERO, N.; LOPEZ-MOYA, F.; ARANDA-MARTINEZ, A.; EXPOSITO, A.; RICAÑO-RODRIGUEZ, J.; ORTIZ-NARANJO, M. A.; RAMÍREZ-LEPE, M.; LOPEZ-LLORCA, L. V. Some isolates of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydsporia* promote root growth and reduce flowering time of tomato. **Annals of Applied Biology**, v. 166, n. 3, p. 472-483, 2015.
- ZHANG, J.; CHEN, G. Y.; LI, X.Z.; HU, M.; WANG, B. Y.; RUAN, B. H.; ZHOU, H.; ZHAO, L. X.; DING, Z. T.; YANG, Y. B. Phytotoxic, antibacterial, and antioxidant activities of mycotoxins and other metabolites from *Trichoderma* sp. **National Proceedings of Research**, v. 31, n. 23, p. 2745-2752, 2017.
- ZHANG, F.; PENG, D.; YE, X.; YU, Z.; HU, Z.; RUAN, L.; SUN, R. *In vitro* uptake of 140 kDa *Bacillus thuringiensis* nematicidal crystal proteins by the second stage juvenile of *Meloidogyne hapla*. **Plos One**, v. 7, n. 6, e38534, 2012.



PARTE V

MANEJO DE PRAGAS

Manejo de pragas com bactérias entomopatogênicas

Ricardo Antonio Polanczyk

Joacir do Nascimento

Marcelo Mueller de Freitas

Daniel Dalvan do Nascimento

Introdução

O manejo de pragas da soja no Brasil tem suas origens em meados de 1970, período caracterizado pelo uso deliberado de inseticidas e acaricidas químicos com amplo espectro de ação e elevada toxicidade (Bueno et al., 2012). Entretanto, neste período surgia o conceito e o início dos primeiros trabalhos voltados para o Manejo Integrado de Pragas (MIP) no Brasil. Entre eles o uso de bioinseticidas a base de bactérias, publicados por Figueiredo et al. (1960) e Pigatti et al. (1960). Porém, somente na década de 1990, um grande projeto com *Bacillus thuringiensis* (Bt) Berliner foi conduzido pela Embrapa visando ao controle de *Spodoptera frugiperda*. Naquela época apenas três produtos comerciais à base de *B. thuringiensis kurstaki* estavam disponíveis no mercado: Dipel®, Thuricide® e Bactospeine® (Habib; Amaral, 1985).

O período entre 2000 e 2012 foi marcado pela pouca evolução na adoção de bactérias para o controle de pragas e na oferta de produtos comerciais que passou de seis para nove (Polanczyk et al., 2017). Apesar da alta eficiência dos bioinseticidas Bt no controle de *Anticarsia gemmatilis*, praga-chave da soja, o seu uso por parte dos produtores não foi significativo (Habib; Amaral, 1985; Bobrowski et al., 2002), principalmente devido à competição com produtos químicos convencionais de amplo espectro, com ação rápida e de baixo custo e, também a ampla adoção do baculovirus anticarsia (AgMNPV).

É importante destacar que nesse período houve o fortalecimento de empresas ligadas ao controle biológico, que resultou no aumento das pesquisas com biológicos, como métodos de aplicação, métodos de produção, condições para armazenamento. Isto resultou no gradativo aumento no número de produtos biológicos registrados no Brasil. Entre as empresas de sucesso, podemos destacar a Bug Agentes Biológicos, que no ano de 2012 recebeu reconhecimento internacional, quando foi considerada pela revista *Fast Company* como uma das empresas mais inovadoras mundialmente, concorrendo com empresas consolidadas tecnologicamente.

O marco no mercado de Bt bioinseticidas ocorreu durante a safra 2013/2014 no Brasil, com aumento da demanda de produtos comerciais devido aos surtos populacionais de *Helicoverpa armigera* em lavouras de soja e algodão. Na época os prejuízos foram estimados em mais de US\$ 3 bilhões somente na cultura

da soja (Polanczyk; Frankenhuyzen et al.; Pauli, 2017). A rápida adoção desses bioinseticidas foi devida à ineficiência de inseticidas químicos tradicionais para *H. armigera*, possivelmente ocasionada pela pressão de seleção de indivíduos resistentes frequentemente expostos às principais moléculas inseticidas utilizadas a campo, uma vez que esta espécie pode ter sido introduzida no país desde 2008 (Ahmad et al., 2003; Patil et al., 2006; Wu, 2007; Sosa-Gómez et al., 2016). A alta demanda e eficiência dos Bt como bioinseticidas para o controle desta espécie concentrou esforços das empresas para o desenvolvimento e comercialização de novos bioinseticidas resultando em 12 produtos registrados e outros 10 sob registro emergencial para controle de *H. armigera* no ano de 2016 (Polanczyk; Frankenhuyzen et al.; Pauli, 2017). Em 2021 esses dados aumentaram para 33 produtos registrados (Mapa, 2022).

O uso de produtos biológicos tem crescido exponencialmente impulsionado pela demanda por produtos menos agressivos aos organismos não-alvos e ao ambiente e perda de eficiência de inseticidas químicos, causada principalmente pela seleção de populações resistentes. As bactérias entomopatogênicas ocupam a maior porção do mercado de produtos microbiológicos, com uma vasta lista de produtos comerciais registrados para o controle de artrópodes-praga em todo o mundo.

Como os bioinseticidas tendem a apresentar menos riscos do que os inseticidas convencionais, em alguns países, como o caso dos EUA e mais recentemente o Brasil, apresentam um processo de registro simplificado para esses produtos, que requer menos dados toxicológicos e ambientais. Como resultado, o tempo e recursos necessários para registrar um bioproduto foram reduzidos (Marrone, 2014; MAPA, 2021). No Brasil, as agências regulatórias reduziram significativamente o tempo médio para aprovação e registro de bioinsumos nos últimos anos devido à distinção entre produtos de baixa toxicidade e produtos químicos sintéticos (MAPA, 2021).

Bacillus thuringiensis

Características gerais e histórico

A bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) tem sido isolada em diversos ecossistemas como: água, solo, insetos, poeira e folhas de árvores (Argôlo-Filho; Loguercio, 2014). Embora tenha sido formalmente descrita por Ernst Berliner em 1911 na Thuringia após ter sido isolada de lagartas de *Ephestia kuehniella*, essa bactéria foi descoberta no Japão em 1901 por S. Ishiwata em lagartas de *Bombyx mori* (Ishiwata, 1901; Berliner, 1915). Após as primeiras evidências demonstrarem o efeito em tóxico em lagartas de *B. mori*, Bt foi considerada um risco para a indústria da seda Japonesa e somente em 1927 seu efeito como potencial agente de controle biológico foi investigado contra *Ostrinia nubilalis* (Mattes, 1927). Resultados promissores alcançados em laboratório levaram ao início da produção comercial de Bt na França e a primeira formulação comercial ocorreu em 1938, com o lançamento do Sporine®.

Desde a sua descoberta, primeiros estudos e o desenvolvimento de biopesticidas, Bt tem sido amplamente investigada e mais de 100 subespécies têm sido descritas com diferentes características filogenéticas e de serotipagem com efeito tóxico em 7 diferentes ordens de insetos, além de ácaros, nematoides e protozoários (Schnepf et al., 1998; Salehi Jouzani et al., 2008; Jouzani et al., 2017; Karabörklü et al., 2017; Zhang et al., 2018; Peng et al., 2019; Azizoglu et al., 2020; Frentzel et al., 2020)).

Essas características, tornaram Bt o agente de controle microbiano mais utilizado em todo o mundo, com participação de mais de 50% do mercado global de biopesticidas (Glare et al., 2012; Lacey et al., 2015). No Brasil, o número de produtos registrados com esse organismo representa 16,8% de todo o mercado de bioinseticidas. Enquanto os demais bioinseticidas tiveram um aumento de 63,4% no número de registros nos últimos cinco anos, o registro de Bt bioinseticidas aumentou 175% no mesmo período (Mapa, 2022).

Modo de ação

Bacillus thuringiensis é conhecida pela produção de múltiplos fatores de virulência, entre os quais, proteínas inseticidas Cry são os principais responsáveis pela letalidade. Essas proteínas são sintetizadas e armazenadas durante a esporulação dentro de um cristal parasporal, característica que distingue Bt de outros *Bacillus* spp. (Figura 1).

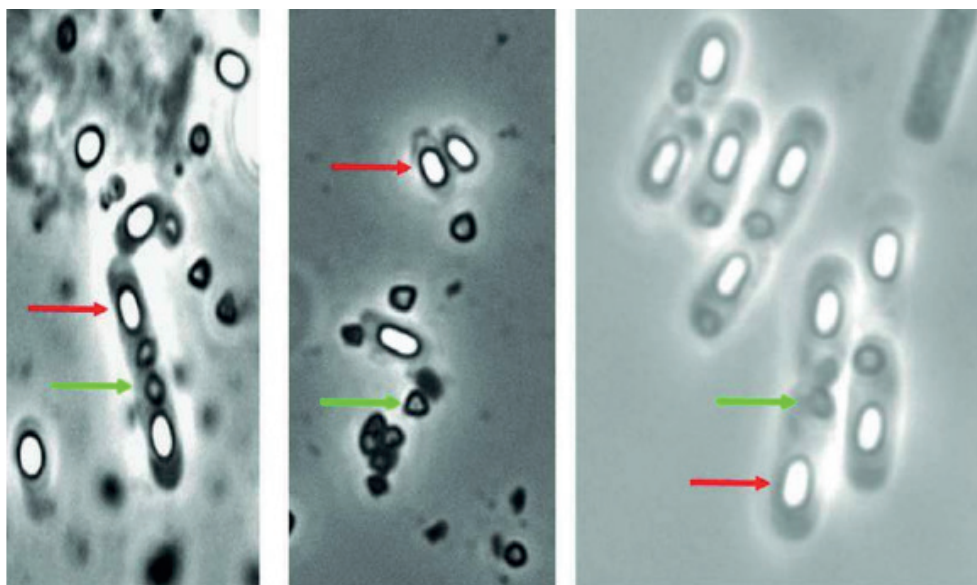


Figura 1. *Bacillus thuringiensis*: esporo (setas vermelhas), de coloração mais clara; e o cristal bipiramidal (setas verdes), de coloração mais escura.

Fonte: Allende et al., 2016.

As proteínas Cry são tóxicas para Lepidoptera, Coleoptera e Diptera. Outros tipos de toxinas, denominadas Vip (“Vegetative Insecticidal Protein”), são produzidas e secretadas pelo Bt durante a sua fase vegetativa. As toxinas Cry e Vip são nomeadas e classificadas de acordo com a similaridade da sequência de proteínas (Glare et al., 2017). Aproximadamente 820 genes *cry* (*cry1-cry78*) e 147 *vip* (*vip1, 2 e 3*) foram detectados e caracterizados de diferentes subespécies de Bt em todo o mundo (Crickmore et al., 2021).

Uma vez que as proteínas agem no intestino médio do inseto hospedeiro, o Bt precisa ser ingerido para matar a lagarta. Após a ingestão, as protoxinas são solubilizadas a partir do cristal e processadas por

enzimas proteolíticas do intestino do hospedeiro, pelas quais a toxina ativa é produzida. Posteriormente, a toxina ativada se liga a um ou vários receptores na superfície das células epiteliais que revestem o intestino do inseto. O domínio I está envolvido na oligomerização e formação de poros, enquanto os domínios II e III estão envolvidos na ligação ao receptor (Figura 2) (Bravo et al., 2007; Pardo-Lopez et al., 2013; De Maagd, 2015).

A diversidade e especificidade de proteínas inseticidas produzidas por Bt tornou-o mundialmente conhecido. Embora muitas dessas proteínas sejam exclusivas de Bt, o tipo de toxina é altamente variável de acordo com a subespécie ou cepa utilizada. Até o momento já forma catalogadas mais de 100 subespécies de Bt, muitas das quais têm sido amplamente estudadas por suas propriedades inseticidas (Schoch et al., 2020).

Bioinsumos a base de *Bacillus thuringiensis* disponíveis para o controle de pragas na cultura da soja no Brasil

As cepas *Bacillus thuringiensis israelenses*, *Bacillus thuringiensis aizawai* e *Bacillus thuringiensis kurstaki* são as de maior interesse e, conseqüentemente, as que deram origem a grande maioria dos produtos até o momento (Bravo et al., 2011; Polanczyk et al., 2017; Mapa, 2022). Embora a toxicidade de Bt tenha sido demonstrada para diversos grupos de pragas (Fiuza et al., 2017), os produtos registrados até o momento no Brasil concentram-se apenas no controle de Lagartas de lepidópteros (Figura 3). Até então,

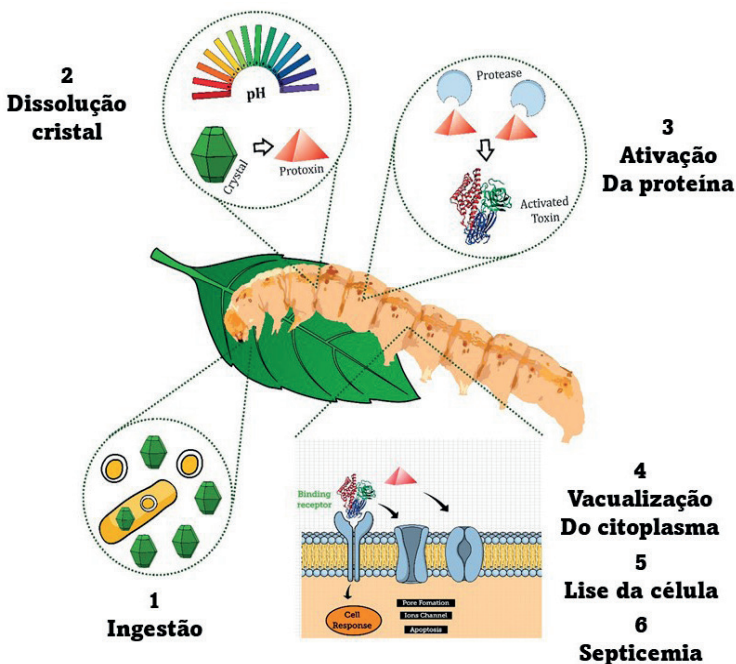


Figura 2. Modo de ação de bioinseticida Bt.

Fonte: adaptado de Oliveira et al., (2021) com permissão da American Chemical Society (ACS) publications.

Bt bioinseticidas estão registrados para o controle de 36 espécies em diferentes culturas; a lagarta-falsa-medideira *Chrysodeixis includens*; lagarta-do-algodão, *Helicoverpa armigera*; bicho-furão, *Ecdytoplopha aurantiana*; lagarta-militar, *Spodoptera frugiperda* e lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatalis*, são as que possuem maior número de produtos registrados (Figura 3), das quais apenas o bicho-furão, não é praga da cultura da soja, o que reflete a importância desses bioinsumos para a cultura no Brasil. No total, oito pragas da soja possuem pelo menos um bioinseticida a base de Bt registrado para o seu controle.

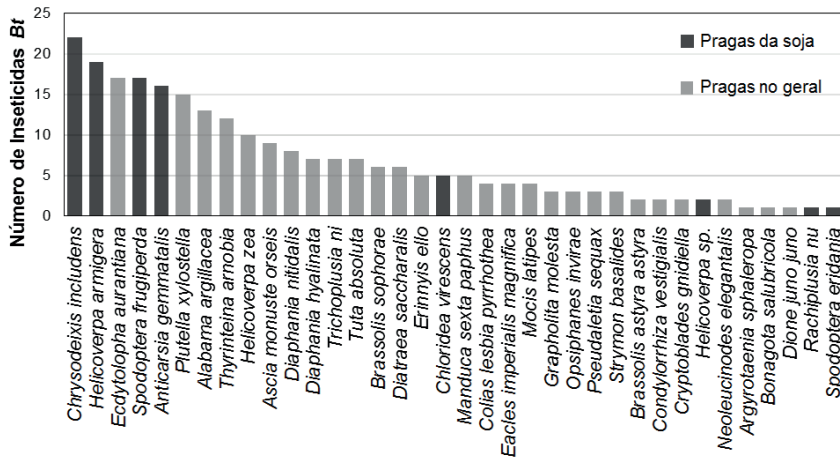


Figura 3. Número de bioinseticidas a base de *Bacillus thuringiensis* (Bt) registrados por alvo no Brasil.

Fonte: Mapa, 2022.

Bacillus thuringiensis kurstaki é a subespécie considerada de maior importância, pois está presente na grande maioria dos Bt bioinseticidas (Polanczyk et al., 2017). A importância dessa subespécie é principalmente devido a expressão das proteínas inseticidas Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac, Cry2Aa, consideradas de alta toxicidade para lepidópteros (Bravo et al., 2011; Rao; Jurat-Fuentes, 2020). De forma semelhante, *Bacillus thuringiensis aizawai* também é bastante utilizado no controle de insetos desse grupo, especialmente *Spodoptera* spp., expressando as proteínas Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1C e Cry1D (Bravo et al., 2011; Rao; Jurat-Fuentes, 2020).

Somente três subespécies de Bt possuem registro no ministério da agricultura (MAPA), são elas: *Bacillus thuringiensis kurstaki* (Btk), *Bacillus thuringiensis aizawai* (Bta) e *Bacillus thuringiensis tolworthi* (Btt). Dentre essas, a maioria dos produtos são compostos por Btk (89,0%), seguido por Bta (7,8%) e Btt, esse último com apenas um registro (0,4%). Há também produtos que possuem combinação de Btk e Bta (1,2%), e produtos cujo a subespécie não é especificada (1,6%) (Mapa, 2022), esse cenário se mantém semelhante quando restringido a somente pragas da soja (Figura 4).

O mercado de Bt abrange 15 empresas, que detêm o registro de 33 produtos, variando em subespécie, cepa, alvos e formulação do produto. Em soja, cerca de 48% dos Bt bioinseticidas são comercializados na formulação suspensão concentrada (SC), seguido de pó molhável (WP; 28%), concentrado emulsionável (EC; 11%), grânulos dispersíveis em água (WG; 10%) e dispersão em óleo (OD; 3%) (Tabela 1).

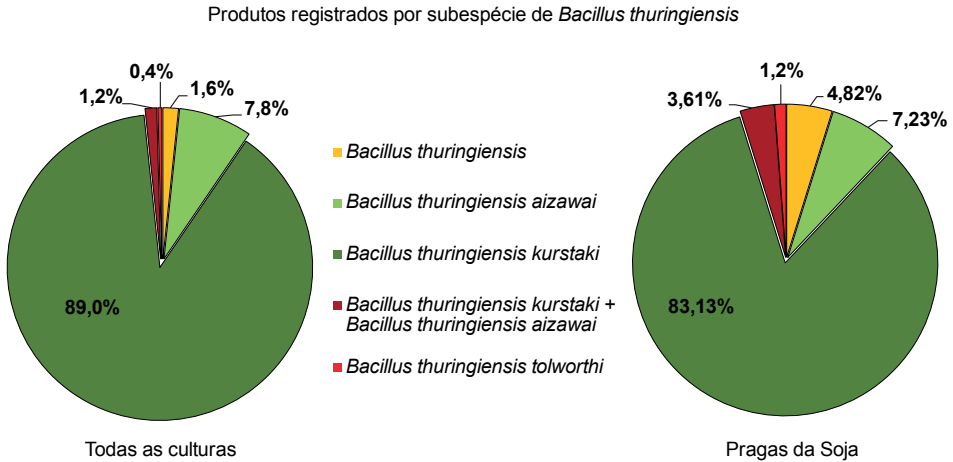


Figura 4. Percentual de bioinseticidas registrados no Brasil por subespécie de *Bacillus thuringiensis*.

Fonte: Mapa, 2022.

Estratégias para o uso de bioinseticidas a base de Bt para o controle de pragas na soja

Os bioinseticidas a base de Bt são ambientalmente seguros e suas formulações são rapidamente degradadas e não deixam resíduos. Eles são altamente específicos quanto ao modo de ação e apresentam baixo ou nenhum efeito em organismos não alvos, como inimigos naturais, outros animais e humanos. Dada a sua baixa toxicidade, estes bioinsumos permitem maior flexibilidade ao tempo de colheita e de reentrada de pessoas na lavoura.

O avanço da pesquisa e tecnologia tem possibilitado aos Bt bioinseticidas maior eficácia no controle de pragas. Diversos estudos demonstram que a eficiência destes bioinsumos pode ser comparada à dos inseticidas químicos sintéticos e podem, potencialmente, ser mais eficazes a longo prazo (Kalha et al., 2014; Melo et al., 2016; Li et al., 2017). A maioria dos bioinsumos também estão isentos das tolerâncias convencionais de resíduos químicos em produtos agrícolas definidos por agências governamentais, o que permite aos produtores exportarem para mercados mais amplos e exigentes (Marrone, 2014).

Apesar das inúmeras vantagens, os estudos no desenvolvimento de produtos à base de Bt buscam aperfeiçoar entraves no seu uso, dentre eles a baixa persistência em campo, devido a ação da temperatura e radiação UV, além de problemas associados a compatibilidade de Bt bioinseticidas com inseticidas químicos na mistura em tanque (Glare et al., 2012).

A baixa persistência de bioinseticidas Bt é reportada desde o início do uso de forma comercial na década 1960 até os dias atuais (Cantwell; Franklin, 1966; Pinnock et al., 1971; Pinnock et al. 1974; Glare et al., 2012), em diversas culturas como soja (Ignoffo et al., 1974; Nascimento, 2019), milho (Lynch, 1980) e algodão (Beegle, 1981). Nascimento (2019), observou que a persistência do Dipel PM foi de três dias, com controle efetivo de *A. gemmatilis* (~80%). A persistência reduzida de Bt bioinseticidas pode implicar em menor intervalo entre aplicações, o que acarreta o aumento do custo de produção. Diante disso, o emprego de novas tecnologias são fundamentais para descoberta de formulações com maior persistência.

Tabela 1. Relação de produtos à base de *Bacillus thuringiensis* e as pragas da cultura da soja para as quais são registradas no Brasil. (Fonte: Mapa, 2022)

Praga	Nome comercial do produto	Empresa detentora do registro	Subespécie de <i>Bacillus thuringiensis</i>
Lagarta das folhas (<i>Spodoptera eridania</i>)	Sympatico OD	Sumitomo Chemical	<i>Btk + Bta</i>
Lagarta-da-maçã (<i>Chloridea virescens</i>)	Bac-Control WP	Vectorcontrol	<i>Btk</i>
	Dipel SC	Sumitomo Chemical	<i>Btk</i>
	Dipel WP	Sumitomo Chemical	<i>Btk</i>
	Tarik WP	Vectorcontrol	<i>Btk</i>
	Thuricide WP	Bio Controle	<i>Btk</i>
Lagarta-da-soja (<i>Anticarsia gemmatilis</i>)	Able SC	Mitsui & Co	<i>Btk</i>
	Bac-Control WP	Vectorcontrol	<i>Btk</i>
	Bacmix BTKSC	COMDEAGRO	<i>Btk</i>
	Bettus Org SC	Nooa	<i>Btk</i>
	BioBac T SC	Vital Chemical	<i>Btk</i>
	Biolep Protection SC	Simbiose	<i>Btk</i>
	BTControl SC	Simbiose	<i>Btk</i>
	BTFERT SC	Micro-Bio	<i>Btk</i>
	Btkill JCO SC	JCO Bioprodutos	<i>Btk</i>
	Dipel SC	Sumitomo Chemical	<i>Btk</i>
	Dipel WG	Sumitomo Chemical	<i>Btk</i>
	Dipel WP	Sumitomo Chemical	<i>Btk</i>
	Ponto Final SC	Bthek Biotecnologia	<i>Btk</i>
	Tarik WP	Vectorcontrol	<i>Btk</i>
	Thuricide SC	Mitsui & Co	<i>Btk</i>
Thuricide WP	Bio Controle	<i>Btk</i>	
Lagarta-do-algodão (<i>Helicoverpa armigera</i>)	Able SC	Mitsui & Co	<i>Btk</i>
	Agree WP	Bio Controle	<i>Bta</i>
	Bac Control Max EC	Vectorcontrol	<i>Btk</i>
	Bac Control Max WP	Vectorcontrol	<i>Btk</i>
	Bac-Control WP	Vectorcontrol	<i>Btk</i>
	Biolep Protection SC	Simbiose	<i>Btk</i>
	BTControl SC	Simbiose	<i>Btk</i>
	Costar WG	Mitsui & Co	<i>Btk</i>
	Dipel ES-NT SC	Sumitomo Chemical	<i>Btk</i>
	Dipel SC	Sumitomo Chemical	<i>Btk</i>
	Dipel WG	Sumitomo Chemical	<i>Btk</i>
	Helymax EC	Ballagro	<i>Btk</i>
	Javelin WG	Mitsui & Co	<i>Btk</i>
	Stregga EC	Vectorcontrol	<i>Btk</i>
	Tarik EC	Vectorcontrol	<i>Btk</i>
	Tarik WP	Vectorcontrol	<i>Btk</i>
	Thuricide SC	Mitsui & Co	<i>Btk</i>
Thuricide WP	Bio Controle	<i>Btk</i>	
Winner Max EC	Vectorcontrol	<i>Btk</i>	

Continua

Tabela 1. Continuação

Praga	Nome comercial do produto	Empresa detentora do registro	Subespécie de <i>Bacillus thuringiensis</i>
Lagarta-falsa-medideira (<i>Chrysodeixis includens</i>)	Acera EC	Ballagro	<i>Bt</i>
	Agree WP	Bio Controle	<i>Bta</i>
	Bacmix BTKSC	COMDEAGRO	<i>Btk</i>
	Bettus Org SC	Nooa	<i>Btk</i>
	BI73.002/17 EC	Ballagro	<i>Bt</i>
	BioBac T SC	Vital Chemical	<i>Btk</i>
	Biolep Protection SC	Simbiose	<i>Btk</i>
	BTControl SC	Simbiose	<i>Btk</i>
	BTFERT SC	Micro-Bio	<i>Btk</i>
	Btkill JCO SC	JCO Bioprodutos	<i>Btk</i>
	BT-Turbo Max SC	Vittia	<i>Btk</i>
	Costar WG	Mitsui & Co	<i>Btk</i>
	Dipel ES-NT SC	Sumitomo Chemical	<i>Btk</i>
	Dipel SC	Sumitomo Chemical	<i>Btk</i>
	Dipel WG	Sumitomo Chemical	<i>Btk</i>
	Dipel WP	Sumitomo Chemical	<i>Btk</i>
	Eco-Zone SC	Lemma	<i>Bta</i>
	Javelin WG	Mitsui & Co	<i>Btk</i>
	Ponto Final SC	Bthek Biotecnologia	<i>Btk</i>
Sympatico OD	Sumitomo Chemical	<i>Btk + Bta</i>	
Thuricide SC	Mitsui & Co	<i>Btk</i>	
Thuricide WP	Bio Controle	<i>Btk</i>	
Lagarta-falsa-medideira (<i>Rachiplusia nu</i>)	Thuricide WP	Bio Controle	<i>Btk</i>
Lagarta-helicoverpa (<i>Helicoverpa</i> sp.)	Able SC	Mitsui & Co	<i>Btk</i>
	Dipel WP	Sumitomo Chemical	<i>Btk</i>
Lagarta-militar (<i>Spodoptera</i> <i>frugiperda</i>)	Acera EC	Ballagro	<i>Bt</i>
	Agree WP	Bio Controle	<i>Bta</i>
	Bac-Control WP	Vectorcontrol	<i>Btk</i>
	Bacmix BTKSC	COMDEAGRO	<i>Btk</i>
	Bettus Org SC	Nooa	<i>Btk</i>
	BI73.002/17 EC	Ballagro	<i>Bt</i>
	BioBac T SC	Vital Chemical	<i>Btk</i>
	BTFERT SC	Micro-Bio	<i>Btk</i>
	Btkill JCO SC	JCO Bioprodutos	<i>Btk</i>
	Crystal SC	Lallemand	<i>Btt</i>
	Dipel WP	Sumitomo Chemical	<i>Btk</i>
	Eco-Zone SC	Lemma	<i>Bta</i>
	Ponto Final SC	Bthek Biotecnologia	<i>Btk</i>
	Sympatico OD	Sumitomo Chemical	<i>Btk + Bta</i>
	Tarik WP	Vectorcontrol	<i>Btk</i>
	Thuricide WP	Bio Controle	<i>Btk</i>
	Xentari WG	Sumitomo Chemical	<i>Bta</i>

Tipo de formulação: SC - Suspensão Concentrada, EC - Concentrado Emulsionável, WG - Grânulos Dispersíveis em Água, WP - Pó Molhável, OD - Dispersão de óleo ou Suspensão Concentrada em óleo. Subespécie: *Btk*, *Bacillus thuringiensis kurstaki*; *Bta*, *Bacillus thuringiensis aizawai*; *Btt*, *Bacillus thuringiensis toloworthi* e *Bt*, subespécie não informada.

Dentre as tecnologias que vem aumentar a persistência, estão as técnicas de encapsulamento, que além de proporcionar a proteção do microrganismo contra os efeitos abióticos (temperatura, umidade, UV), um sistema de encapsulamento adequado tem o potencial de proporcionar um maior tempo de armazenamento do produto (vida de prateleira), uma dose reduzida de aplicação (menores perdas) bem como um manuseio aprimorado que facilite o seu uso (facilidade no preparo da calda) (Vemmer; Patel, 2013).

O encapsulamento pode amenizar os problemas relacionados a compatibilidade de Bt bioinseticidas com inseticidas químicos. Assim, técnicas de co-encapsulação com microrganismos e ingredientes ativos sintéticos representam uma alternativa viável para essa problemática, visto que a tecnologia proporciona um acondicionamento de dois ou mais componentes em uma formulação sem a necessariamente de interagirem (Paula et al., 2011). A nível de Brasil essa tecnologia pode ser amplamente utilizada devido a uma instrução normativa (IN) aprovada e publicada no diário oficial da união no dia 26 de dezembro de 2017. Essa IN regulamenta as recomendações de mistura em tanque, que a partir da presente data devem ser feitas por instituições públicas ou privadas de ensino, de pesquisa ou extensão rural, associação de produtores, cooperativas de agricultores, empresa registrante de agrotóxicos e afins (Brasil, 2017).

A partir dessa normativa, grandes esforços para gerar recomendações foram feitos pelas empresas de pesquisa e órgãos competentes. Importante ressaltar que a aplicação de tecnologias dessa natureza se faz extremamente necessária para a cultura da soja, uma vez que inúmeras espécies de pragas causam danos a cultura. Diante disso, o emprego de diferentes ferramentas é necessário para o manejo adequado, desse modo, a compatibilidade entre os produtos é importante para controlar as diversas pragas que ocorrem durante o ciclo de desenvolvimento da cultura.

A pesquisa com formulações de bioinseticidas observa detalhes associados aos materiais utilizados na formulação que podem ter diversas origens, como talco, turfa e argila. De maneira geral, os agentes encapsulantes utilizados são de origem natural, como polissacarídeos, gomas e açúcares, por serem materiais de baixo custo e impacto ambiental (Oliveira et al., 2021)

Nos últimos anos, são crescentes os estudos relacionados com tecnologia de aplicação de produtos biológicos. Fatores como a quantidade de calda aplicada, horário da pulverização, espectro de gotas, pH e recomendações específicas de aplicação para as diferentes culturas tem sido investigado.

Na cultura da soja, devido as grandes áreas de cultivo é uma tendência reduzir o volume de calda aplicado para aumentar a capacidade operacional da atividade de pulverização. No entanto essa redução deve ser realizada com critérios, visto que a redução do volume sem conhecimento pode comprometer a eficiência do controle de pragas.

Parâmetros ligados a tecnologia de aplicação devem ser analisados, com base em critérios como estágio fenológicos da cultura, área foliar da cultivar, condição climática, além dos fatores anteriormente citados. Com a análise desses critérios aumentam as chances da correta colocação do produto no alvo e são discutidos em mais detalhes no Capítulo 6.

Manejo de populações de insetos resistentes

Nos últimos anos a evolução da resistência em cultivos Bt vem sendo amplamente estudada, devido a ameaça da sustentabilidade da tecnologia Bt a longo prazo. A resistência é um processo natural em consequência da evolução, em que indivíduos de uma população da praga-alvo podem ser capazes de sobreviver a exposição inicial a uma planta Bt com expressão de proteína inseticida que teoricamente deveria matá-los, e esta sobrevivência pode ser devido a características genéticas (Bernardi et al. 2016).

Outro ponto, é capacidade de que os indivíduos têm de passar essa característica para os seus descendentes (Martinelli et al. 2017). No Brasil, algumas pragas-alvo das tecnologias Bt, *S. frugiperda*, *C. includens* e *H. armigera*, também são apontadas como as espécies que apresentam maior risco de evolução da resistência em campo, em função de características bioecológicas e histórico de evolução de resistência de proteínas Bt em outros países e no Brasil (Bernardi et al. 2016).

Os Bt bioinseticidas podem ser empregados como ferramenta para o manejo da resistência de pragas a insetos, principalmente inseticidas químicos, uma vez que a maioria dos inseticidas químicos atuam em único local de ação, atacando uma via metabólica ou processo fisiológico da praga (Souza et al., 2019).

A aplicação de forma sequencial de inseticidas químicos, pode acarretar a rápida seleção de populações resistentes (Marrone 2019). Em um cenário de produção de soja cuidados para que isso não ocorra são importantes, principalmente devido à alta pressão de pragas que ocorrem na cultura, além dos inúmeros relatos de resistência reportados no mundo de espécies de pragas que ocorrem na cultura da soja (APRD, 2021).

Neste cenário, o uso de Bt bioinseticidas se destaca como importante ferramenta para manejar populações resistentes, uma vez que Bt bioinseticidas são complexos e atuam em diferentes locais na fisiologia do inseto para causar a morte no inseto (Souza et al., 2019).

Em formulações comerciais de Bt bioinseticidas, além dos inertes temos o cristal proteico e o esporo, e ambos desempenham papéis importantes na mortalidade do inseto. A toxina será responsável pela formação de poros na membrana do intestino, e acarreta a perda da seletividade, que entra em contato com o esporo (bactéria) que, por sua vez, encontra a hemolinfa rica em nutrientes e multiplicam-se, causando a septicemia no inseto (De Bortoli; Jurat-Fuentes, 2019).

Devido ao complexo mecanismo envolvido na mortalidade de pragas, bioinseticidas Bt tem menos probabilidade de selecionar a populações resistente. Existe somente um relato de resistência de insetos a a Bt bioinseticidas em campo, apesar do seu uso ter aproximadamente 50 anos de comercialização (Jiang et al., 2015; Wang et al., 2021).

No cultivo de soja transgênica no Brasil, os primeiros indícios de resistência foram observados em campo na safra 2020/21 com *Rachiplusia nu* e *Crociosema aporema* e os Bt bioinseticidas podem ser usados ainda na cultura para controlar pragas que não são alvo da tecnologia, como por exemplo o complexo de lagartas do gênero *Spodoptera* (*S. frugiperda*, *S. eridania* e *S. cosmioides*) ou também para espécies que a tecnologia Intacta® apresenta supressão como lagartas do gênero *Helicoverpa*.

Em programas de MIP, o uso de bioinsumos a base de bactérias tem sido recomendada em rotação com produtos químicos e em conjunto com plantas Bt como estratégia de manejo de resistência de insetos (Marrone, 2014; Souza et al., 2019; Rao; Jurat-Fuentes, 2020). Além de ser uma importante

ferramenta para manejar populações resistentes a inseticidas químicos, nos últimos anos os pesquisadores buscam alternativas para manejar populações resistentes a cultivos Bt, e alguns trabalhos mostram que Bt bioinseticidas podem ser utilizados para manejar essas populações devido à ausência de resistência cruzada entre proteínas inseticidas Bt em plantas geneticamente modificadas e aquelas presentes nos Bt bioinseticidas (Jakka et al., 2014; Horikoshi et al., 2019). Diante disso, aplicação de Bt bioinseticidas em área cultivada com plantas Bt pode ser realizada sem restrição, bem como em áreas de refúgio.

Além disso, estudos demonstram que os bioinsumos podem apresentar sinergismo com inseticidas químicos e resultar no controle mais eficiente de pragas (Marrone, 2014). Embora bastante promissor e vantajoso, diversos estudos demonstram resultados variáveis no uso combinado de produtos químicos e bioinseticidas e que efeitos aditivos ou sinérgicos são dependentes da compatibilidade entre os produtos (Sain et al., 2019; Gonçalves, 2020). Além disso, como resultado do uso crescente de bioinseticidas, tem sido observado reduções nas aplicações com inseticidas em cultivos.

Perspectivas para o uso de bactérias no controle de insetos sugadores

Bacillus thuringiensis é reconhecida pelo alto grau de especificidade de seus hospedeiros e, inicialmente, era caracterizada com toxicidade de subespécie ou cepa restrita à determinada ordem de insetos, especificamente Lepidoptera (subsp. *kurstaki*, *aizawai*), Coleoptera (*tenebrionis*), ou Diptera (*israelensis*). Posteriormente, a associação entre a gama de hospedeiros e a presença de cristais proteicos foi definida e o avanço nas pesquisas permitiu o reconhecimento de famílias de toxinas com forte afinidade para Lepidoptera (Cry1), Coleoptera (Cry3), Diptera (Cry4), ou Lepidoptera e Diptera (Cry2). Embora demonstre alta eficiência contra espécies dessas ordens, a atividade inseticida de diversas proteínas de Bt têm sido observadas em outras ordens como Hemiptera, Hymenoptera e Ortoptera, além de outros organismos como nematoides, ácaros e protozoários (Bravo et al., 2017; Van Frankenhuyzen, 2017).

Entre os insetos sugadores, a toxicidade de Bt foi reportada para algumas espécies de pulgões, percevejos, cigarrinhas e cochonilhas, embora a atividade inseticida observada nesses estudos tenha sido baixa à moderada (Porcar et al., 2009; Li et al., 2011; Baum et al., 2012; Van Frankenhuyzen, 2017). Entretanto, algumas proteínas de Bt demonstram alta toxicidade para as cigarrinhas *Laodelphax striatellus* (Cry78Aa, Cry78Ba1, Cry64Ba e Cry64Ca), *Sogatella furcifera* (Cry64Ba e Cry64Ca), *Nilaparvata lugens* (Cry78Aa) e para o pulgão *Aphis gossypii* (Vip1A/Vip2A) (Sattar; Maiti, 2011; Liu et al., 2018; Wang et al., 2018; Cao et al., 2020).

Resultados promissores foram observados para algumas cepas de Bt que ocasionaram efeito tóxico para o percevejo marrom *Euschistus heros*, praga chave na cultura da soja. O efeito combinado das cepas MTox 126-6 (Proteínas Cry 2) e MTox 3146-4 (Proteínas Cry9) ocasionou alta mortalidade de ninfas de segundo ínstar de *E. heros* (Schünemann et al., 2018). Outra bactéria, *Chromobacterium subtsugae* tem sido investigada para o controle de sugadores importantes que ocorrem na soja, como o percevejo verde *Nezara viridula* e a mosca branca *Bemisia tabaci*. Assim como Bt, as toxinas produzidas por *C. subtsugae* também podem ser utilizadas sem a bactéria viva, característica desejável para o desenvolvimento de produtos comerciais (Martin et al., 2007; Lacey, 2017).

***Bacillus* além do uso no controle de insetos**

Embora Bt seja o maior caso de sucesso em termos de agentes de biocontrole na agricultura, outras espécies de *Bacillus* também tem ganhado espaço nesse cenário, atuando em áreas que vão além do controle de insetos. Com modos de ação diversificados, esse grupo de organismos também é bastante conhecido como bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), ação que reflete diretamente no aumento da produtividade, o que explica sua rápida popularização (Tiwari et al., 2019).

São vários os mecanismos aos quais as bactérias desse gênero podem atuar, podendo ser classificados em dois grupos: mecanismos diretos e indiretos de promoção de crescimento (Tiwari et al., 2019). Dentre os mecanismos diretos, podemos citar, fixação de Nitrogênio (N), solubilização de nutrientes como fósforo (P) e potássio (K) e zinco (Zn), produção de sideróforos e produção e regulação de fitormônios. Como mecanismos indiretos tem-se, atividades de biocontrole por meio da produção de compostos antimicrobianos, enzimas hidrolíticas, indução de resistência sistêmica, produção de exopolissacarídeos (EPSs), biorremediação de metais pesados do solo e formação de biofilme. Além disso, essas bactérias também possuem influência na estruturação do solo e estabilização de agregados, favorecendo a retenção e absorção de água pelas plantas.

Os efeitos de biocontrole somado as características já citadas e a busca mundial por tecnologias mais sustentáveis, fizeram com que o uso dessas bactérias, já consolidado em países da Europa e Estados Unidos, fossem rapidamente registrados para doenças de diversas culturas no Brasil. *Bacillus subtilis* é uns dos principais representante desse grupo, sendo um dos primeiros a deter registro no país, juntamente com *Bacillus pumilus* em meados de 2011 (Bettiol et al., 2012, Mapa, 2022). Atualmente, cerca de 22 produtos à base de *Bacillus*, incluindo combinações com outros microrganismos, possuem registro como fungicidas e/ou bactericidas microbiológicos, dos quais, 50% são a base de *Bacillus amyloliquefaciens*, 36,4% a base de *B. subtilis* e 13,6% de *B. pumilus*.

Diversas espécies de doenças podem ser manejadas com o uso dessas bactérias, incluindo, míldios e oídios (*Leveillula taurica*, *Uncinula necator*, *Oidiopsis* sp., *Erisiphe* sp., *Bremia* sp. *Peronospora* sp., *Sphaerotheca* sp.), requeima (*Phytophthora infestans*), requeima bacteriana (*Erwinia amylovora*), Mofo cinzento (*Botrytis cinerea*), mancha bacteriana (*Xanthomonas*), mancha de alternaria (*Alternaria* spp.), crestamento gomoso (*Didymella bryoniae*) e sigatoka-negra (*Mycosphaerella fijiensis*). Doenças da soja também podem ser tratadas com o uso de *Bacillus*, como, mofo-branco (*Sclerotinia* spp.), antracnose (*Colletotrichum* spp.), rizoctoniose (*Rhizoctonia solani*), fusarioses (*Fusarium* spp.), ferrugem asiática (*Phakopsora* spp.), mancha alvo (*Corynespora cassiicola*), mancha parda (*Septoria glycines*), cercosporiose (*Cercospora kikuchii*), crestamento bacteriano (*Pseudomonas syringae*), dentre outras (Mapa, 2022). De modo geral, essas bactérias atuam na inibição da germinação dos esporos e crescimento do tubo germinativo e micelial do patógeno, atuando também como indutores de resistência (D'Agostino, et al., 2009). A eficiência é potencializada quando utilizados preventivamente, de forma a impedir o estabelecimento inicial da doença.

A utilização de *Bacillus* também tem se destacado no controle de nematoides. Essas bactérias possuem um importante papel na rizosfera das plantas, o que ajuda a explicar sua eficiência no controle desses vermes. As bactérias colonizam o sistema radicular das plantas e atuam produzindo compostos antagônicos aos

nematoides. Além disso, *Bacillus* podem agir na formação de biofilme no tecido vegetal, o que dificulta a procura e penetração do nematoide nas raízes. No caso do controle de nematoides, a diversidade de espécies de *Bacillus* que detém registro no Brasil é ainda maior, tais como, *B. amyloliquefaciens* (36,1%), *B. subtilis* (36,1%), *Bacillus licheniformis* (13,9%), *Bacillus firmus* (8,3%), *Bacillus methylotrophicus* (5,5%) (Mapa, 2022) Informações mais detalhadas a respeito do uso dessas bactérias no controle de nematoides são mais bem elucidadas no capítulo 20, sobre nematoides.

Considerações finais

Apesar de nos últimos anos a taxa de uso de bioinseticidas ter aumentado significativamente, ainda são necessários muitos estudos, principalmente no segmento de tecnologia de aplicação bem como a influência de fatores ambientais em sistemas de cultivos tropicais sobre a eficiência de Bt bioinseticidas. Além de estudos voltados para a compatibilidade e seu uso para manejo de resistência, se faz necessário a padronização de metodologias para avaliar a compatibilidade com outros produtos utilizados no sistema produtivo da soja, sejam eles inseticidas, fungicidas, herbicidas, adjuvantes e outros. Além disso, a pesquisa de bioinseticidas Bt que tenham efeito para sugadores vêm ganhando atenção nos últimos anos, devido aos grandes impactos que insetos sugadores vêm causando em diversas culturas, inclusive na soja. Importante ressaltar que o panorama para bioinsumos na cultura da soja é excelente, visto a crescente utilização desses produtos por parte dos agricultores.

Referências

- AHMAD, M.; ARIF, M. I.; AHMAD, Z. Susceptibility of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) to new chemistries in Pakistan. *Crop Protection*, v. 22, n. 3, p. 539-544, 2003.
- ALLENDE, A.; BOLTON, D.; CHEMALY, M.; DAVIES, R.; SALVADOR, F.; ANDEZ E.; AMEZ, P.; GIRON, R.; HERMAN, L.; KOUTSOUMANIS, K.; LINDQVIST, R.; NORRUNG, B.; RICCI, A.; ROBERTSON, L.; RU, G.; SANAA, M.; SIMMONS, M.; SKANDAMIS, P.; SNARY, E.; SPEYBROECK, N.; TER KUILE, B.; SANCHIS, V. Risks for public health related to the presence of *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. including *Bacillus thuringiensis* in foodstuffs. *EFSA Journal*, v. 14, n. 7, p. 33, 2016.
- APRD - Arthropod Pesticide Resistance Database. 2021. Disponível em: <https://www.pesticideresistance.org/search.php>. Acesso em: 10 maio 2021.
- ARGÓLO-FILHO, R. C.; LOGUERCIO, L. L. *Bacillus thuringiensis* is an environmental pathogen and host-specificity has developed as an adaptation to human-generated ecological niches. *Insects*, v. 5, n. 1, p. 62-91, 2014.
- AZIZOGLU, U.; JOUZANI, G. S.; YILMAZ, N.; BAZ, E.; OZKOK, D. Genetically modified entomopathogenic bacteria, recent developments, benefits and impacts: A review. *Science of The Total Environment*, v. 734, p. 139169, 2020.
- BAUM, J. A.; SUKURU, U. R.; PENN, S. R.; MEYER, S. E.; SUBBARAO, S.; SHI, X.; FLASINSKI, S.; HECK, G. R.; BROWN, R. S.; CLARK, T. L. Cotton plants expressing a hemipteran-active *Bacillus thuringiensis* crystal protein impact the development and survival of *Lygus hesperus* (Hemiptera: Miridae) nymphs. *Journal of economic entomology*, v. 105, n. 2, p. 616-624, 2012.
- BERLINER, E. Über die Schlafsucht der Mehlottenraupe (*Ephestia kühniella* Zell.) und ihren Erreger *Bacillus thuringiensis* n. sp. *Zeitschrift für angewandte Entomologie*, v. 2, n. 1, p. 29-56, 1915.
- BERNARDI, O.; BERNARDI, D.; HORIKOSHI, R. J.; OMOTO, C. **Manejo da Resistência de Insetos a Plantas Bt**. Engenheiro Coelho: PROMIP, 2016.
- BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B.; PINTO, Z. V.; PAULA JÚNIOR, T. J. de; CORRÊA, É. B.; MOURA, A. B.; LUCON, C. M. M.; COSTA, J. de C. do B.; BEZERRA, J. L. **Produtos comerciais à base de agentes de biocontrole de doenças de plantas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2012. 155 p. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 88).
- BOBROWSKI, V.; PASQUALI, G.; BODANESE-ZANETTINI, M.; PINTO, L.; FIUZA, L. Characterization of two *Bacillus thuringiensis* isolates from South Brazil and their toxicity against *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Biological control*, v. 25, n. 2, p. 129-135, 2002.

- BRASIL. Ministério da agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria N 148, de 26 de dezembro de 2017. Estabelece critérios e procedimentos a serem adotados para recomendação de mistura em tanque de agrotóxicos e afins, e sua prescrição em receitaário agrônomo. **Diário Oficial da União**, 28 dez. 2017. Seção 1, p. 5-6.
- BRAVO, A.; GILL, S. S.; SOBERON, M. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. **Toxicon**, v. 49, n. 4, p. 423-435, 2007.
- BRAVO, A.; LIKITVIVATANAVONG, S.; GILL, S. S.; SOBERÓN, M. *Bacillus thuringiensis*: A story of a successful bioinsecticide. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 41, p. 423-431, 2011.
- BRAVO, A.; PACHECO, S.; GÓMEZ, I.; GARCIA-GÓMEZ, B.; ONOFRE, J.; SOBERÓN, M. Insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* and their mechanism of action. In: FIUZA, L. M.; POLANCZYK, R. A.; CRICKMORE, N. (Eds.). *Bacillus thuringiensis and Lysinibacillus sphaericus*. Cham: Springer, 2017. p. 53-66.
- BUENO, A. de F.; PANIZZI, A. R.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; SOSA-GOMEZ, D. R.; GAZZONI, D. L.; HIROSE, E.; MOSCARDI, F.; CORSO, I. C.; OLIVEIRA, L. J.; ROGGIA, S. Histórico e evolução do manejo integrado de pragas da soja no Brasil. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. (Eds.). *Soja: manejo integrado de insetos e outros Artrópodes-praga*. Brasília, DF: Embrapa, 2012. p. 37-74.
- CANTWELL, G.E.; FRANKLIN B.A. Inactivation by irradiation of spores of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis*. **Journal of invertebrate pathology**, v.8, p. 256-258, 1966.
- CAO, B.; SHU, C.; GENG, L.; SONG, F.; ZHANG, J. Cry78Ba1, One Novel Crystal Protein from *Bacillus thuringiensis* with High Insecticidal Activity against Rice Planthopper. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 68, n. 8, p. 2539-2546, 2020.
- CRICKMORE, N.; BERRY, C.; PANNEERSELVAM, S.; MISHRA, R.; CONNOR, T. R.; BONNING, B. C. A structure-based nomenclature for *Bacillus thuringiensis* and other bacteria-derived pesticidal proteins. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 186, e107438, 2021. DOI: 10.1016/j.jip.2020.107438.
- D'AGOSTINO, F.; MORANDI, M. A. B. Análise da viabilidade comercial de produtos à base de *Bacillus subtilis* e *Bacillus pumilus* para controle de fitopatógenos no Brasil. In: BERTTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Eds.). *Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas*. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2009. v. 1, cap. 20, p. 299-316.
- DE BORTOLI, C. P.; JURAT-FUENTES, J. L. Mechanisms of resistance to commercially relevant entomopathogenic bacteria. **Current opinion in insect science**, v. 33, p. 56-62, 2019.
- DE MAAGD, R. A. *Bacillus thuringiensis*-based products for insect pest control. In: LUGTENBERG, B. (Ed.). *Principles of Plant-microbe Interactions*. Cham: Springer, 2015. p. 185-192.
- FIGUEIREDO, M.; COUTINHO, J.; ORLANDO, A. Novas perspectivas para o controle biológico de algumas pragas com *Bacillus thuringiensis*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 27, p. 77-88, 1960.
- FIUZA, L. M.; BERLITZ, D. L.; OLIVEIRA, J. V. de; KNAACK, N. *Bacillus thuringiensis*: Different Targets and Interactions. In: FIUZA, L. M.; POLANCZYK, R. A.; CRICKMORE, N. (Eds.). *Bacillus thuringiensis and Lysinibacillus sphaericus*. Cham: Springer, 2017. p. 111-126.
- FRENTZEL, H.; JURASCHEK, K.; PAULY, N.; KELNER-BURGOS, Y.; WICHMANN-SCHAUER, H. Indications of biopesticidal *Bacillus thuringiensis* strains in bell pepper and tomato. **International Journal of Food Microbiology**, v. 321, p. 108542, 2020.
- GLARE, T.; CARADUS, J.; GELERNTER, W.; JACKSON, T.; KEYHANI, N.; KÖHL, J.; MARRONE, P.; MORIN, L.; STEWART, A. Have biopesticides come of age? **Trends in Biotechnology**, v. 30, n. 5, p. 250-258, 2012.
- GLARE, T.; JURAT-FUENTES, J.-L.; O'CALLAGHAN, M. Basic and applied research: entomopathogenic bacteria. In: LACEY, L. A. (Ed.). *Microbial control of insect and mite pests*. London: Academic Press, 2017. cap. 4, p. 47-67.
- GONÇALVES, K. C. *Compatibilidade, efeitos letais e subletais de misturas de bioinseticidas à base de Bacillus thuringiensis e inseticidas em Chrysodeixis includens*. 2020. 124 p. Tese (Doutorado em Agronomia. Entomologia Agrícola) Unesp, Jaboticabal.
- HABIB, M.; AMARAL, M. Aerial application of *Bacillus thuringiensis* against the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatilis* Huebner, in soybean fields. **Revista de Agricultura**, v. 60, n. 2, p. 141-149, 1985.
- HORIKOSHI, R. J.; BERNARDI, O.; AMARAL, F. S. D. A. E.; MIRALDO, L. L.; DURIGAN, M. R.; BERNARDI, D.; SILVA, S. S.; OMOTO, C. Lack of relevant cross-resistance to Bt insecticide XenTari in strains of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) resistant to Bt maize. **Journal Invertebrate Pathology**, v. 161, p. 1-6, 2019.
- IGNOFFO, C. M.; HOSTETTER, D. L.; PINNELL, R. E. Stability of *Bacillus thuringiensis* and *Baculovirus heliothis* on soybean foliage. **Environmental Entomology**, v.3, p.117-119, 1974.
- ISHIWATA, S. On a Kind of Severe Flacherie (Sotto Disease). **Dainihon Sanshi Kaiho**, v. 114, n. 1, p. 1-5, 1901. (Original em japonês).
- JAKKA, S. R. K.; KNIGHT, V. R.; JURAT-FUENTES, J. L. *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) with field-evolved resistance to Bt maize are susceptible to Bt pesticides. **Journal Invertebrate Pathology**, v. 122, p. 52-54, 2014.

- JIANG, T.; WU, S.; YANG, T.; ZHU C.; GAO, C. Monitoring Field Populations of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) for Resistance to Eight Insecticides in China. *Florida Entomologist*, v. 98, n. 1, 2015.
- JOUZANI, G. S.; VALJANIAN, E.; SHARAFI, R. *Bacillus thuringiensis*: a successful insecticide with new environmental features and tidings. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 101, n. 7, p. 2691-2711, 2017.
- KALHA, C.; SINGH, P.; KANG, S.; HUNJAN, M.; GUPTA, V.; SHARMA, R. Entomopathogenic viruses and bacteria for insect-pest control. In: DHARAM, P. A. (Ed.). *Integrated pest management: Current concepts and ecological perspectives*. San Diego: Academic Press, 2014. p. 225-244.
- KARABÖRKLÜ, S.; AZIZOGLU, U.; AZIZOGLU, Z. B. Recombinant entomopathogenic agents: a review of biotechnological approaches to pest insect control. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 34, n. 1, p. 14, 2017.
- LACEY, L. A. *Microbial control of insect and mite pests: from theory to practice*. London: Elsevier, 2017. 461 p.
- LACEY, L. A.; GRZYWACZ, D.; SHAPIRO-ILAN, D. I.; FRUTOS, R.; BROWNBRIDGE, M.; GOETTEL, M. S. Insect pathogens as biological control agents: Back to the future. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 132, p. 1-41, 2015.
- LI, H.; CHOUGULE, N. P.; BONNING, B. C. Interaction of the *Bacillus thuringiensis* delta endotoxins Cry1Ac and Cry3Aa with the gut of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* (Harris). *Journal of invertebrate pathology*, v. 107, n. 1, p. 69-78, 2011.
- LI, L.; CHEN, Z.; YU, Z. Mass Production, Application and Market Development of *Bacillus thuringiensis* Biopesticides in China. In: FIUZA, L. M.; POLANCIZYK, R. A.; CRICKMORE, N. (Eds.). *Bacillus thuringiensis and Lysinibacillus sphaericus*. Cham: Academic Press, 2017. p. 185-212.
- LIU, Y.; WANG, Y.; SHU, C.; LIN, K.; SONG, F.; BRAVO, A.; SOBERÓN, M.; ZHANG, J. Cry64Ba and Cry64Ca, two ETX/MTX2-type *Bacillus thuringiensis* insecticidal proteins active against hemipteran pests. *Applied and environmental microbiology*, v. 84, n. 3, p. e01996-01917, 2018.
- LYNCH, R.E.; LEWIS, L.C.; BERRY, E.C. Application efficacy and field persistence of *Bacillus thuringiensis* when applied to corn for European corn borer control. *Journal of Economic Entomology*, v. 73, p. 4-7, 1980.
- MAPA. *Agrofit: consulta aberta*. 2022. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agro_fit_cons>. Acesso em: 10 fev. 2022.
- MARRONE, P. G. Pesticidal natural products - status and future potential. *Pest Management Science*, v. 75, n. 9, p. 2325-2340, 2019.
- MARRONE, P. G. The market and potential for biopesticides. In: GROSS, A. D.; COATS, J. R.; DUKE, S. O.; SEIBER, J. N. (Eds.). *Biopesticides: state of the art and future opportunities*. Washington, DC: ACS, 2014. p. 245-258.
- MARTIN, P. A.; HIROSE, E.; ALDRICH, J. R. Toxicity of *Chromobacterium subsugae* to southern green stink bug (Heteroptera: Pentatomidae) and corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of economic entomology*, v. 100, n. 3, p. 680-684, 2007.
- MARTINELLI, S.; DE CARVALHO, R. A.; DOURADO, P. M.; HEAD, G. P. Resistance of *Spodoptera frugiperda* to *Bacillus thuringiensis* Proteins in the Western Hemisphere. In: FIUZA, L. M.; POLANCIZYK, R. A.; CRICKMORE, N. (Eds.). *Bacillus thuringiensis and Lysinibacillus sphaericus*. Cham: Springer, 2017. p. 273-288.
- MATTES, O. Parasitare Krankheiten der Mehlmottenlarven und Versuche über ihre Verwendbarkeit als biologisches Bekämpfungsmittel. *Sitzber. Ges. Beförder. Ges. Naturw. Marburg*, v. 62, p. 381-417, 1927.
- MELO, A. L. D. A.; SOCCOL, V. T.; SOCCOL, C. R. *Bacillus thuringiensis*: mechanism of action, resistance, and new applications: a review. *Critical reviews in biotechnology*, v. 36, n. 2, p. 317-326, 2016.
- NASCIMENTO, J. *Persistência de Bacillus thuringiensis Berliner, 1915 em soja (Glycine max (L.) Merrill) e mortalidade de Anticarsia gemmatilis (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Erebidae)*. 2019. 86 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Entomologia Agrícola) Unesp, Jabcotabal.
- OLIVEIRA, J. L. de; FRACETO, L. F.; BRAVO, A.; POLANCIZYK, R. A. Encapsulation Strategies for *Bacillus thuringiensis*: From Now to the Future. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 69, p. 4564-4577, 2021.
- PARDO-LOPEZ, L.; SOBERON, M.; BRAVO, A. *Bacillus thuringiensis* insecticidal three-domain Cry toxins: mode of action, insect resistance and consequences for crop protection. *FEMS microbiology reviews*, v. 37, n. 1, p. 3-22, 2013.
- PATIL, S.; BASHASAB, F.; KURUVINASHETTI, M. S.; PATIL, B. V. Genetic relatedness among *Helicoverpa armigera* (Hübner) occurring on different host plants as revealed by random amplified polymorphic DNA markers. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, v. 9, n. 3, p. 227-233, 2006.
- PAULA, A. R.; CAROLINO, A. T.; PAULA, C. O.; SAMUELS, R. I. The combination of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* with the insecticide Imidacloprid increases virulence against the dengue vector *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Parasit Vectors*, v. 4, p. 8, 2011.
- PENG, Q.; YU, Q.; SONG, F. Expression of cry genes in *Bacillus thuringiensis* biotechnology. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 103, n. 4, p. 1617-1626, 2019.
- PIGATTI, A.; FIGUEIREDO, M.; ORLANDO, A. Experiências de laboratório sobre a atividade de novos inseticidas contra o mandorová da mandioca. *Biológico*, v. 26, p. 47-51, 1960.

- PINNOCK, D.E.; BRAND, R.J.; MILSTEAD, J.E. The field persistence of *Bacillus thuringiensis* spores. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.18, p.405-411, 1971.
- PINNOCK, D.; BRAND, R.J.; JACKSON, K.L.E.; MILSTEAD, J.E. The Field Persistence of *Bacillus thuringiensis* Spores on *Cercis occidentalis* Leaves. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.23, p. 341-346, 1974.
- POLANCZYK, R. A.; FRANKENHUYZEN, K. van; PAULI, G. The American *Bacillus thuringiensis* based biopesticides market. In: FIUZA, L. M.; POLANCZYK, R. A.; CRICKMORE, N. (Eds.). *Bacillus thuringiensis* and *Lysinibacillus sphaericus*. Cham: Springer, 2017. p. 173-184.
- PORCAR, M.; GRENIER, A.-M.; FEDERICI, B.; RAHBÉ, Y. Effects of *Bacillus thuringiensis* -endotoxins on the pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*). **Applied and environmental microbiology**, v. 75, n. 14, p. 4897-4900, 2009.
- RAO, T.; JURAT-FUENTES, J. Advances in the use of entomopathogenic bacteria/microbial control agents (MCAs) as biopesticides in suppressing crop insect pests. In: BIRCH, N.; GLARE, T. (Eds.). **Biopesticides for Sustainable Agriculture**. Cambridge: Burleigh Dodds Science Publishing, 2020. p. 1-37.
- SAIN, S. K.; MONGA, D.; KUMAR, R.; NAGRALE, D. T.; HIREMANI, N. S.; KRANTHI, S. Compatibility of entomopathogenic fungi with insecticides and their efficacy for IPM of *Bemisia tabaci* in cotton. **Journal of pesticide science**, v. 44, n. 2, p. 97-105, 2019.
- SALEHI JOUZANI, G.; POURJAN ABAD, A.; SEIFINEJAD, A.; MARZBAN, R.; KARIMAN, K.; MALEKI, B. Distribution and diversity of Dipteran-specific cry and cyt genes in native *Bacillus thuringiensis* strains obtained from different ecosystems of Iran. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 35, n. 2, p. 83-94, 2008.
- SATTAR, S.; MAITI, M. K. Molecular characterization of a novel vegetative insecticidal protein from *Bacillus thuringiensis* effective against sap-sucking insect pest. **Journal of microbiology and biotechnology**, v. 21, n. 9, p. 937-946, 2011.
- SCHNEPP, E.; CRICKMORE, N.; VAN RIE, J.; LERECLUS, D.; BAUM, J.; FEITELSON, J.; ZEIGLER, D. R.; DEAN, D. H. *Bacillus thuringiensis* and Its Pesticidal Crystal Proteins. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 62, n. 3, p. 775-806, 1998.
- SCHOCH, C. L.; CIUFO, S.; DOMRACHEV, M.; HOTTON, C.L.; KANNAN, S.; KHOVANSKAYA, R.; LEIPE, D.; MCVEIGH, R.; O'NEILL, K.; ROBERTSE, B.; SHARMA, S.; SOUSSOV, V.; SULLIVAN, J.P.; SUN, L.; TURNER, S.; KARSCH-MIZRACHI, I. NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. **Database**, 2020. DOI:10.1093/database/baaa062.
- SCHÜNEMANN, R.; ROGGIA, S.; MURARO, D. S.; KNAAK, N.; FIUZA, L. M. Insecticidal potential of *Bacillus thuringiensis* for the biological control of neotropical brown stink bug. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 166, n. 2, p. 131-138, 2018.
- SOSA-GÓMEZ, D. R.; SPECHT, A.; PAULA-MORAES, S. V.; LOPES-LIMA, A.; YANO, S. A.; MICHELI, A.; MORAIS, E. G.; GALLO, P.; PEREIRA, P. R.; SALVADORI, J. R. Timeline and geographical distribution of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera, Noctuidae: Heliothinae) in Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 60, n. 1, p. 101-104, 2016.
- SOUZA, C. S. F.; SILVEIRA, L. C. P.; PITTA, R. M.; WAQUIL, J. M.; PEREIRA, E. J. G.; MENDES, S. M. Response of field populations and Cry-resistant strains of fall armyworm to Bt maize hybrids and Bt-based bioinsecticides. **Crop Protection**, v. 120, p. 1-6, 2019.
- TIWARI, S.; PRASAD, V.; LATA, C. *Bacillus*: Plant Growth Promoting Bacteria for Sustainable Agriculture and Environment. In: SINGH, J. S.; SINGH, D. P. (Eds.). **New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering**. [S. l.]: Elsevier, 2019. p. 43-55.
- VAN FRANKENHUYZEN, K. Specificity and cross-order activity of *Bacillus thuringiensis* pesticidal proteins. In: FIUZA, L. M.; POLANCZYK, R. A.; CRICKMORE, N. (Eds.). *Bacillus thuringiensis* and *Lysinibacillus sphaericus*. New York: Springer International Publisher, 2017. p. 127-172.
- VEMMER, M.; PATEL, A. V. Review of encapsulation methods suitable for microbial biological control agents. **Biological Control**, v. 67, n. 3, p. 380-389, 2013.
- WANG, J.; ZHENG, X.; YUAN, J.; WANG, S.; XU, B.; WANG, S.; ZHANG, Y.; WU, Q. Insecticide Resistance Monitoring of the Diamondback Moth (Lepidoptera: Plutellidae) Populations in China. **Journal of Economic Entomology**, 2021. DOI:10.1093/jee/toab027
- WANG, Y.; LIU, Y.; ZHANG, J.; CRICKMORE, N.; SONG, F.; GAO, J.; SHU, C. Cry78Aa, a novel *Bacillus thuringiensis* insecticidal protein with activity against *Laodelphax striatellus* and *Nilaparvata lugens*. **Journal of invertebrate pathology**, v. 158, p. 1-5, 2018.
- WU, K. Regional management strategy for cotton bollworm *Helicoverpa armigera* in China. **Control of Insect Pests**, v. 7, p. 559-565, 2007.
- ZHANG, X.; GAO, T.; PENG, Q.; SONG, L.; ZHANG, J.; CHAI, Y.; SUN, D.; SONG, F. A strong promoter of a non-cry gene directs expression of the cry1Ac gene in *Bacillus thuringiensis*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, n. 8, p. 3687-3699, 2018.

Manejo de pragas com vírus entomopatogênicos

*Daniel Ricardo Sosa-Gómez
Daniel Mendes Ardisson-Araujo
Bergmann Morais Ribeiro*

Introdução

Um avanço considerável no uso de bioinseticidas à base de vírus para a cultura da soja está relacionado à crescente preocupação da humanidade com a poluição ambiental e o prejuízo à saúde humana causados pelo uso intensivo de inseticidas químicos. Vírus de insetos são importantes fontes de controle biológico para várias culturas, com especial atenção para o controle de lagartas desfolhadoras na soja (Moscardi, 1999). Vários grupos taxonômicos de vírus são potenciais candidatos para o desenvolvimento de princípios ativos contra insetos-pragas da cultura como é o caso dos baculovírus, cipo vírus, iflavírus, discistrovírus e entomopoxvírus. Entretanto, a maior parte das pesquisas, bem como, o desenvolvimento de produtos limita-se ao uso de baculovírus, um grupo de vírus de insetos historicamente consolidado na agricultura e essencial para o sucesso da cultura da soja, principalmente em situações nas quais a abordagem de controle químico ou o uso de plantas transgênicas apresenta dificuldades. Dessa forma, os baculovírus surgem como ferramentas essenciais para o manejo integrado de pragas (MIP), para o manejo de resistência de insetos (MRI) e como um pilar fundamental à sustentação da cultura orgânica. No campo, produtos baseados em baculovírus podem ser usados sozinhos ou combinados com outras ferramentas de controle químico ou biológico de modo a construir interações aditivas e sinérgicas para controle populacional da praga. Assim, este capítulo terá foco no uso de baculovírus para o controle de insetos praga da soja e o desenvolvimento de produtos associados já disponíveis ou em consolidação. Além disso, o capítulo trará a luz outros grupos de vírus-candidatos (como é o caso de vírus geneticamente modificados) para o desenvolvimento de novos produtos e diversificação de estratégias de combate baseadas em vírus entomopatogênicos.

A família *Baculoviridae* como agente de controle microbiano de insetos

Baculovírus são os vírus de insetos mais estudados no mundo e consolidados para uso como agentes de controle de insetos-praga e na expressão de proteínas com aplicações clínicas e farmacêuticas para humanos (Tsai et al., 2019). Talvez a grande vantagem social do uso de baculovírus como controladores

biológicos é o fato de que estes microrganismos são considerados agentes seguros tanto para humanos quanto para animais vertebrados não-humanos e invertebrados. Associados a isso, os baculovírus podem ser produzidos em larga escala e, devido a sua virulência são letais para a maioria dos seus hospedeiros, podem ser acondicionados em formulações comerciais e usados em diversas culturas. Este uso pode levar a uma consequente redução na utilização de inseticidas químicos, sendo assim introduzidos como alternativa eficaz nos programas de manejo integrado de pragas, assim como de manejo da resistência. Muitos biopesticidas cujo princípio ativo é baseado em baculovírus têm surgido no mercado de diversos países e, no Brasil, este mercado tem ganhado espaço crescente nas culturas da soja e do algodão. Entretanto, a necessidade de um maior número de agentes de extensão treinados e com os conhecimentos que demandem sua utilização pode ser um gargalo importante para a expansão do uso de baculovírus no campo.

Baculovírus já são ferramentas consolidadas e amplamente utilizadas como agentes de controle biológico de insetos-praga da agricultura, com especial atenção para insetos que atacam a soja (Moscardi, 1999). Os baculovírus associados ao controle biológico, na cultura da soja, do nucleopoliedrovírus de *Anticarsia gemmatalis* são agrupados em nucleopoliedrovírus (NPVs, gênero *Alphabaculovirus*) e granulovírus (GV, gênero *Betabaculovirus*), conforme a morfologia de seus corpos de oclusão (do inglês OB, “occlusion bodies”): NPVs apresentam OBs poliédricos denominados de poliedros (Figura 1) e GVs apresentam OBs granulares denominados de grânulos (Figura 2) (Sosa-Gómez et al., 2020). Entretanto, atualmente a taxonomia e nomenclatura dos vírus está em processo profundo de revisão que pode levar a mudanças drásticas de seus posicionamentos taxonômicos e suas denominações científicas (<https://talk.ictvonline.org/>).

Os OBs são estruturas proteicas cristalinas que protegem as partículas virais infecciosas de condições adversas no ambiente como dissecação, temperatura, variação de pH e radiação solar. Estas mesmas estruturas correspondem ao princípio ativo dos formulados aplicados em diversas culturas. As doses aplicadas correspondem a centenas de bilhões de OBs por hectare, que distribuídos sobre as superfícies vegetais, quando ingeridos iniciam o processo infeccioso reduzindo as populações de lagartas.

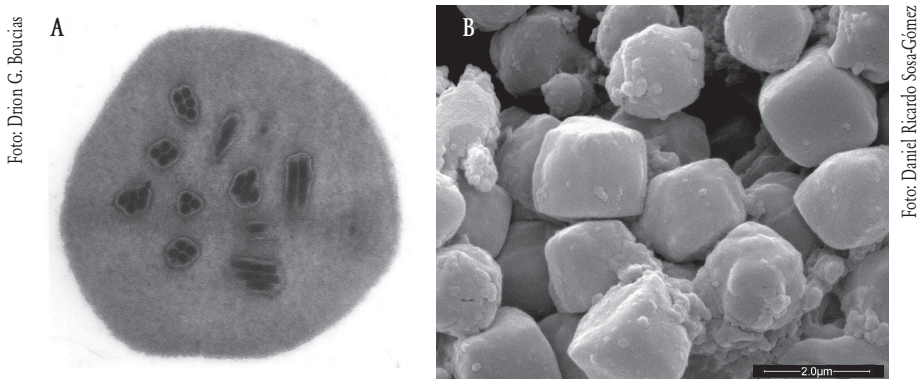


Figura 1. (A) Microscopia eletrônica de transmissão de um corpo de oclusão do nucleopoliedrovírus de *Anticarsia gemmatalis* (AgMNPV), (B) Microscopia eletrônica de varredura dos corpos de oclusão do nucleopoliedrovírus de *Spodoptera cosmioides* (SpcoNPV).

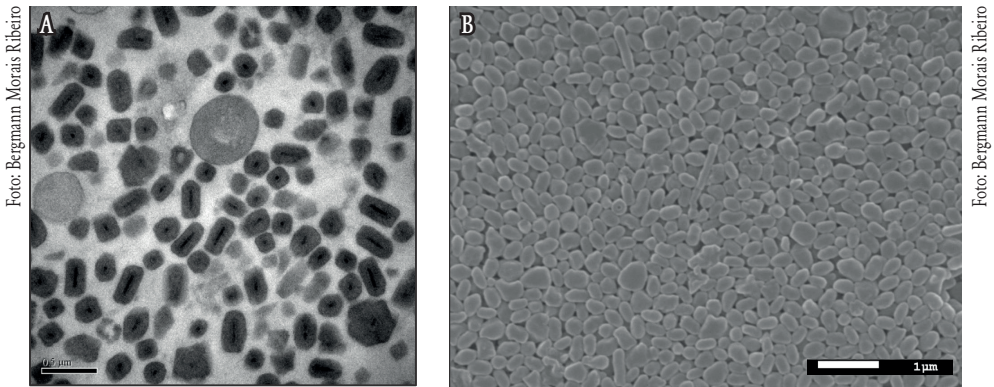


Figura 2. (A) Microscopia eletrônica de transmissão dos corpos de oclusão do granulovírus de *Plutella xylostella* e (B) microscopia eletrônica de varredura dos corpos de oclusão do granulovírus de *Erynnis ello*.

Modo de ação dos baculovírus

Quando ocorre a ingestão dos OBs junto do alimento, a matriz cristalina que forma o poliedro ou grânulo se dissolve devido ao pH alcalino do suco digestivo do inseto, liberando assim, as partículas virais denominadas de vírus derivado de oclusão (do inglês ODV, “occlusion derived virus”) (Figuras 1 e 2). Os ODVs atravessam a membrana peritrófica e atingem as células de revestimento do intestino médio da lagarta, onde realizam a fusão do envelope do vírus com a membrana das microvilosidades celulares (Figura 3). A infecção viral primária ocorre no núcleo da célula e rapidamente produz um segundo tipo viral, o vírus brotado ou extracelular (do inglês BV, “budded virus”) que é responsável pela disseminação da infecção secundária nos tecidos do inseto. Assim, o BV escapa das células do intestino médio e circula pelo corpo do inseto infectando outros tecidos susceptíveis como células do sistema traqueal, hemócitos (Figura 4) e tecido adiposo (Figura 5) (Grzywacz, 2017; Sosa-Gómez et al., 2020). Após a produção massiva de BVs, ocorre uma transição para produção de ODVs que serão acondicionados dentro dos OBs, encerrando o ciclo infectivo do vírus. OBs se acumulam no núcleo das células infectadas que sofrem morte celular e lise e geram consequências morfofisiológicas e comportamentais marcantes no inseto infectado como, por exemplo, a perda de apetite, a movimentação afetada e a descoloração do tegumento. Em estágios avançados da doença, os OBs são liberados na hemolinfa e as larvas ficam murchas, letárgicas e apresentam o comportamento fototrófico positivo com a tendência de subir para o topo da planta (“tree top disease”) antes da morte (Figura 6). Em cinco dias a três semanas após os primeiros sinais de infecção, ocorre a morte do hospedeiro, rompimento da cutícula da larva, liberação dos OBs no ambiente, os quais retornam ao solo ou permanecem aderidos sobre a superfície das folhas possibilitando a infecção de outras lagartas (transmissão horizontal).

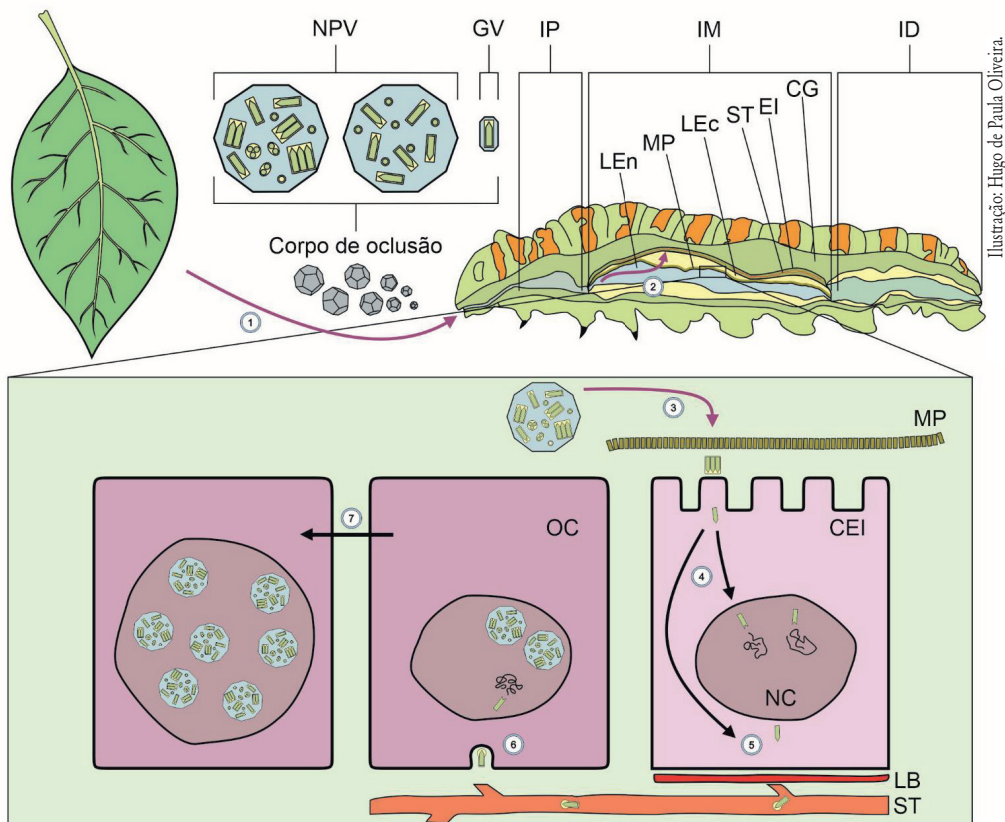


Ilustração: Hugo de Paula Oliveira.

Figura 3. Ciclo infeccioso de um baculovírus usado na soja. O produto a base de baculovírus (NPV ou GV) é pulverizado na plantação no final da tarde ou antes do início da manhã, para evitar exposição aos raios UV. A formulação cai sobre a superfície foliar e contém os corpos de oclusão (OBs) que são o princípio ativo do bioinseticida. Os OBs podem ter formato poliédricos (NPV) ou granular (GV) e consistem a estratégia natural do próprio vírus para proteger as partículas infectivas, que recebem o nome de vírion. (1) Os OBs são ingeridos pela lagarta junto ao alimento. (2) Num corte longitudinal, o trato digestório da lagarta é dividido em intestino próximo (IP), médio (IM) e distal (ID). O IM apresenta uma camada protetora chamada de membrana peritrófica (MP) que protege o epitélio do órgão de substratos muito rígidos, lumen endoperitrófico (LEn), lumen ectoperitrófico (LEc), epitélio do intestino (EI) e corpo gorduroso (CG). (3) O esquema apresenta um recorte da região onde ocorrerá a infecção propriamente dita. Quando OB atinge o IM, o conteúdo digestivo é alcalino e dissolve o OB para a liberação dos vírions. Os vírions atravessam a MP, se fusionam à membrana das microvilosidades das células do epitélio do intestino (CEI), iniciando a infecção. (4) O vírus no núcleo celular (NC) onde replica e produz novos vírions. (5) Os novos vírions escapam da célula do intestino e espalham a infecção pelo corpo do inseto hospedeiro. (6) Os vírus infectam outras células (OC) do hospedeiro que incluem células do sistema traqueal, células da hemolinfa, miócitos e adipócitos. (7) As células infectadas produzem mais vírus que intensificam o espalhamento da infecção. Conforme a infecção progride, as células infectadas produzem centenas de novos OBs, morrem e sofre lise liberando seus conteúdos. O inseto infectado morre, tornando-se um saco de OBs que são liberados no ambiente quando ocorre rompimento do tegumento do hospedeiro.

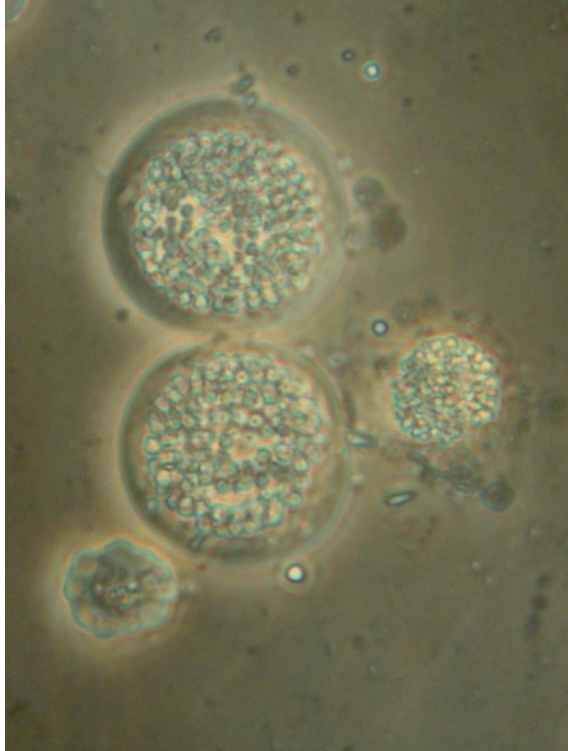


Foto: Daniel Ricardo Sosa-Gómez

Figura 4. Hemócitos de *Anticarsia gemmatalis* com núcleo preenchido por corpos de oclusão, após 160h da inoculação .

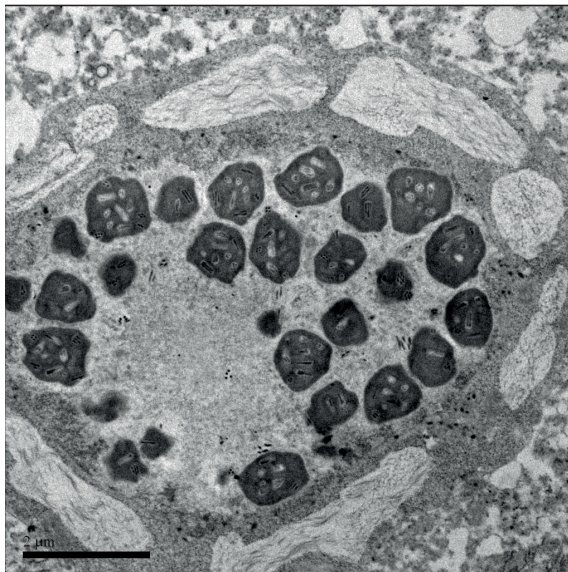


Foto: Bergmann Morais Ribeiro

Figura 5. Formação de corpos de oclusão no tecido gorduroso de *Anticarsia gemmatalis*.

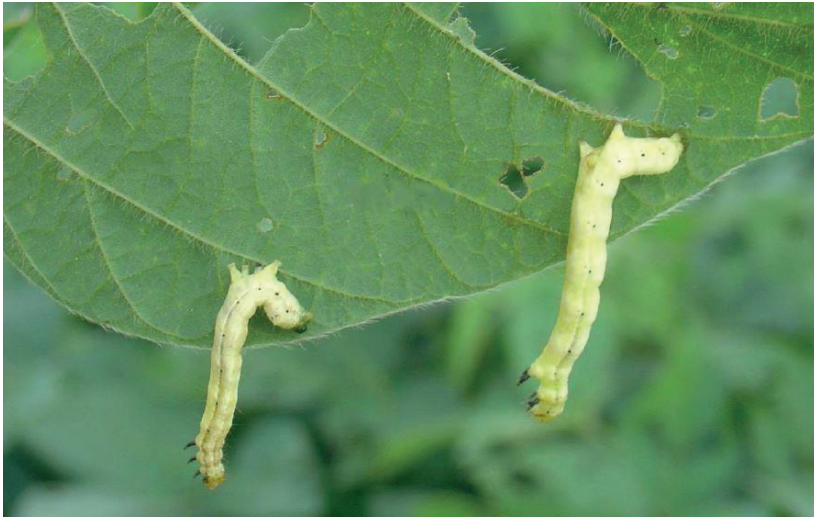


Foto: Bráulio Santos

Figura 6. Larvas de *Chrysodeixis includens* infectadas por ChinNPV.

Baculovírus e sua diversidade

Como todo vírus, os baculovírus estão sujeitos às modificações genéticas durante sua replicação nas células do hospedeiro, resultando em uma grande diversidade intraespecífica e interespecífica. Na verdade, os baculovírus são encontrados na natureza como um conjunto de variantes de diferentes genótipos formando uma população heterogênea em proporções variáveis (Erlandson, 2009; Redman et al., 2016). Essa diversidade genômica possibilita a seleção de novos isolados com maior ou menor virulência contra seu hospedeiro natural e pode ter consequências para o seu uso como agentes de controle biológico (Eberle et al., 2012; Arrizubieta et al., 2015; Ferreira et al., 2019). Maruniak et al. (1999) analisaram o perfil de restrição de 17 genomas de isolados do baculovírus AgMNPV que foi aplicado e amplificado a campo em anos consecutivos. Os resultados mostraram uma grande variabilidade no perfil de restrição ao longo dos anos, indicando uma grande heterogeneidade viral. Essa variabilidade genética é devida a inserções, deleções, duplicações e eventos de rearranjos por recombinação que ocorrem durante a replicação viral nas células do hospedeiro. Além disso, partes do DNA do hospedeiro pode ser introduzido no genoma viral por eventos de transposição sítio específica mediada por transposons (Carpes et al., 2009). Mais recentemente, com o uso do sequenciamento de nova geração (NGS, do inglês “next generation sequencing”), o estudo genético da diversidade viral foi facilitado. Com o sequenciamento completo de isolados virais (temporais e geográficos) de uma população viral presente em uma população de insetos é agora possível fazer estudos genômicos comparativos de variantes virais. Brito et al. (2015) comparou o genoma completo de 17 amostras de isolados selvagens de AgMNPV coletados na Argentina, Uruguai e sul do Brasil nas décadas de 80 e 90. Esses genomas são derivados de uma mistura de genótipos selvagens e mostraram a presença de pelo menos 167 possíveis genes, onde 151 deles foram encontrados em todos os genomas sequenciados e com uma identidade de nucleotídeos entre 98,9% e 99,5% entre os diferentes genomas e o genoma referência do isolado AgMNPV-2D (Oliveira et al., 2006). Além disso, foram observados eventos de fusão e fissão de fases de leitura em quatro genes (*pe-38*, *he-65*, *ag144* e *bro-c*), bem como o

ganho e perda de fragmentos do genoma dentro de regiões repetitivas. Os genes de baculovírus possuem baixo nível de polimorfismos entre isolados do mesmo vírus e mutações não-sinônimas (que mudam a sequência de amino ácidos na proteína) tendem a estar presentes em genes sabidamente diversos (Brito et al., 2015; Miele et al., 2011). Regiões específicas do genoma como regiões repetitivas denominadas de regiões homólogas (hrs, do inglês “homologous regions”) e repetições diretas (drs, do inglês ‘direct repeats’) são locais (“hot spots”) onde inserções e/ou deleções são comuns (Brito et al., 2015, 2018; Miele et al., 2011; Chateigner et al., 2015). Estes “hot spots” do genoma podem inclusive apresentar inserção de novos genes que conferem vantagens adaptativas e permitem a manipulação fisiológica do hospedeiro, como é o caso do inibidor de serino-protease serpin do *Hemileuca* sp nucleopolyhedrovirus (Ardisson-Araújo et al., 2015). O produto desse gene controla a resposta imune do inseto, inibindo enzimas-chave da cascata de melanização do inseto. Genes presentes em todos os baculovírus (denominados de genes “core”) tendem a acumular pouca variação entre diferentes baculovírus, mas outros genes, menos conservados e de função desconhecida, acumulam mais mutações (Brito et al., 2018). Mutações em diferentes genes virais podem levar a alterações no reconhecimento do hospedeiro e na replicação viral, o que pode favorecer uma maior adaptação do vírus ao seu hospedeiro (Simón et al., 2011). Ferreira et al. (2019) analisou o genoma de dois clones virais isolados de uma mistura de genótipos de AgMNPV aplicado a campo em 1979 e que apresentaram atividade inseticida diferentes contra a lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatilis*. O clone denominado Ag79-01 apresentou uma maior virulência quando comparado com o clone denominado AgL-16 e o vírus referência AgMNPV-2D. O genoma do clone AgL-16 mostrou um número maior de variações quando comparado ao clone Ag79-01 e ao AgMNPV-2D. As principais variações ocorreram nos genes *ie-2* e *pe-38*, que codificam proteínas que regulam a expressão de genes virais no início da infecção e no gene *odv-e56*, que codifica uma proteína estrutural. Além disso, as sequências dos genes *bro-a* e *bro-b* foram encontrados formando um único gene. Inglis et al. (2020) analisou comparativamente, os genomas de diferentes isolados do baculovírus *Chrysodeixis includens* nucleopolyhedrovirus (ChinNPV) e foram identificados alguns genomas quiméricos, contendo seis regiões distintas com incongruências na análise filogenética. A maioria dessas regiões foram provavelmente adquiridas pelo ChinNPV por recombinação homóloga de outro baculovírus altamente relacionado, o *Trichoplusia ni* single nucleopolyhedrovirus (TnSNPV). Apesar de possuírem essas diferenças, esses vírus não mostraram diferenças significativas na patogenicidade contra *Chrysodeixis includens*. Várias características como replicação, infectividade e virulência de isolados de baculovírus podem ser diferentes e o estudo dessas variações é importante para o conhecimento das relações filogenéticas dessa família viral (Maruniak et al., 1999; Muñoz et al., 1999; Ferreira et al., 2019; Erlandson, 2009; Simón et al., 2005).

Pragas da cultura da soja como alvo do controle por vírus

Em diversas espécies de lepidópteros de importância econômica para a cultura da soja são conhecidas viroses, principalmente da família *Baculoviridae*. Viroses de outras famílias têm sido referidas na lagarta *Elasmopalpus lignosellus*, que pode ser infectada por um entomopoxvirus (Mitchell et al., 1983), na lagarta da soja infectada por um membro da família *Iridoviridae* (Figura 7) (Kinard et al., 1995) e em outras insetos-praga como os pentatomídeos *E. heros*, *Chinavia ubica*, *Diceraeus melacanthus* e *Nezara*

viridula infectados por iflavírus e e vírus semelhante a picornavírus. Entretanto a presença dessas viroses nestes insetos aparenta não apresentar sintomas (Santos et al., 2019) e em outros casos tem sido relatada redução da longevidade (Williamson; von Wechmar, 1992; 1995). As espécies mais comuns de baculoviroses estão citadas na Tabela 1.

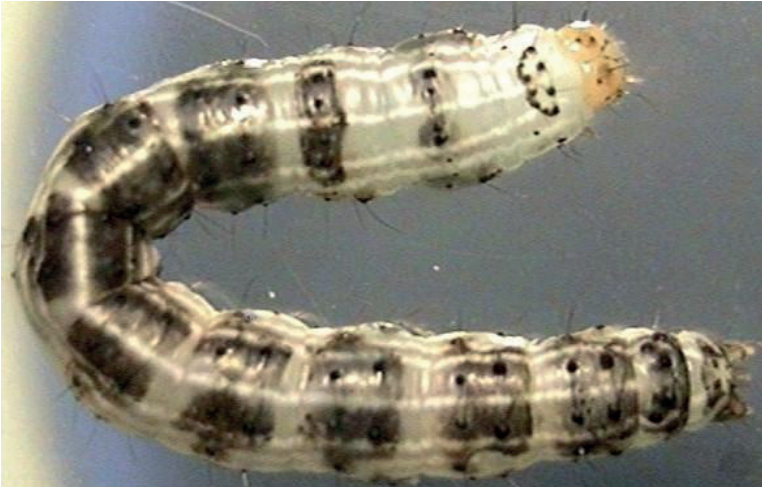


Foto: Daniel Ricardo Sosa-Gómez

Figura 7. Larva de *Anticarsia gemmatalis* infectada por Iridoviridae.

Tabela 1. Viroses de insetos, de ocorrência natural, associadas com pragas do sistema da cultura da soja na América do Sul.

Espécie hospedeira	Vírus	Referência
<i>Anticarsia gemmatalis</i>	AgMNPV ¹	Oliveira et al. (2006)
<i>Chrysodeixis includens</i>	ChinNPV ¹	Craveiro et al. (2015)
<i>Spodoptera eridania</i>	SperNPV ¹	Rodrigues et al. (2020)
<i>S. cosmioides</i>	SpcoNPV ¹	Oliveira et al. (2017)
<i>S. frugiperda</i>	SfMNPV ¹	Wolff et al. (2008), Cuartas et al. (2015)
<i>Rachiplusia nu</i>	RanuNPV	Rodríguez et al. (2012); Trentin et al. (2019)
<i>Helicoverpa armigera</i>	HearNPV	Chen et al. (2002)
<i>Helicoverpa zea</i>	HzSNPV ²	Ardisson-Araujo et al. (2015)
<i>Chloridea virescens</i>	HzSNPV/HearSNPV	Rowley et al. (2011)
<i>Crociosema aporema</i>	EpapGV	Sciocco-Cap et al. (2001)
<i>Urbanus proteus</i>	UrprNPV	Santos et al. (2018)
<i>Mythimna sequax</i>	MyseNPV	Peterson et al. (2017)

¹ Espécies de vírus que alcançaram a fase comercial. ² Infectando *H. armigera*

Uma vez que a maioria das espécies referidas são de hábito filófago e a infecção ocorre por ingestão, seu controle pode ser viável sem maiores dificuldades. Já para espécies de hábitos crípticos, como a broca-das-axilas seu controle pode ser limitado além de que, pelo seu reduzido tamanho, a produção de vírus representa uma condição restritiva. Das espécies referidas na Tabela 1 somente os vírus de *A. gemmatalis*, *C. includens*, *S. eridania*, *S. cosmioides* e *S. frugiperda* alcançaram a fase comercial. Entretanto, uma das viroses mais utilizadas em forma artesanal é o vírus de granulose de *Erynnis ello*, produzido na própria lagarta em populações de ocorrência natural, armazenado em freezer e aplicado na dose de 20 mL de hemolinfa com vírus por hectare (Schmitt, 1985; Lucena et al., 2017). As viroses mais estudadas no Brasil que resultaram em produtos comerciais registrados no MAPA são as destinadas ao controle em pragas da soja, algodão e milho. Embora o SfMNPV de *Spodoptera frugiperda* é utilizado na cultura de milho, não há estudos envolvendo este vírus e suas interações com outras culturas e suas doses, uma vez que este inseto tem se tornado problema em áreas de soja da região central.

Embora sejam conhecidas baculoviroses associadas a pragas do trigo como *Mythimna sequax* (Peterson et al., 2017), do algodão, como *Alabama argillacea* (Andrade, 1981) estas não têm sido estudadas em profundidade.

Produção e formulação

Grande parte do processo de produção dos baculovírus depende do conhecimento das técnicas de criação do inseto hospedeiro e dos fatores envolvidos no processo de infecção. Inicialmente, as instalações devem ser adequadas para essa finalidade, projetadas para facilitar os processos de limpeza e desinfecção. Os ambientes de criação de insetos devem seguir elevados padrões de assepsia e higiene. As unidades de criação devem estar distanciadas da produção de vírus, e devem ter controles ambientais ou de ar-condicionado independentes.

A introdução de material proveniente do campo deve estar sujeita ao rigoroso controle quarentenário e acompanhamento cuidadoso com a finalidade de evitar introduzir doenças de ocorrência natural. Patógenos de transmissão vertical (de pais para filhos), como protozoários e algumas viroses (por exemplo, vírus de poliedrose citoplasmática) podem ser de difícil descontaminação e resultar na eliminação da colônia. Além do controle sanitário, outros parâmetros devem ser controlados, como o estágio do hospedeiro no momento da inoculação (Moscardi et al., 1997) e a temperatura de incubação na qual é obtida a máxima produção de unidades infectivas do vírus no menor tempo possível (Sosa-Gómez; Moscardi, 1996).

Por outro lado, os controles de temperatura/umidade no microambiente onde se encontram as lagartas dependem dos recipientes utilizados e sua permeabilidade a trocas gasosas e difusibilidade da água no ar. Estes aspectos são importantes para evitar o ressecamento da dieta artificial e não permitir que por excesso de umidade proliferem fungos e bactérias contaminantes.

Um dos aspectos mais relevantes é a redução dos custos de produção sem comprometer a eficiência de conversão de tecido do hospedeiro em partículas virais infectivas. Em cada sistema vírus/hospedeiro deve ser determinado o momento ótimo de inoculação e a concentração a ser utilizada como inóculo, uma vez que inoculações em lagartas pequenas ou excessivamente grandes podem resultar na produção limitada de vírus.

A produção de vírus também pode ser realizada em campo, em locais que a ocorrência da praga apresenta densidades elevadas e que pelo seu comportamento permita a coleta dos insetos doentes. Por exemplo, o vírus da lagarta-da-soja pode ser aplicado com doses elevadas (3×10^{11} corpos de oclusão $\cdot \text{ha}^{-1}$) em áreas com infestações elevadas, de 15 ou mais lagartas por metro. Posteriormente, entre 6 e 10 dias da aplicação poderá ser realizada a coleta das lagartas infectadas. Isto é facilitado, porque os insetos doentes apresentam a tendência de subir para a partes mais elevadas da planta e o tegumento de seus cadáveres não sofre lise, facilitando o processo de coleta. Durante a recoleção deve ser evitada a coleta de lagartas sem sintomas de infecção por vírus ou com infecção por fungos, assim como, lagartas de outras espécies. Portanto, o processo de coleta de lagartas infectadas demanda coletores treinados para obter AgMNPV de elevada pureza e qualidade (Moscardi; Sosa-Gómez, 2000).

Revisões relevantes sobre a produção de vírus que podem ser consultadas foram realizadas por diversos autores (Hunter-Fujita, 1998; Claus; Grzywacz et al., 2004; Grzywacz; Moore, 2017), assim como relativas às diferentes formulações (Jones; Burges, 1998; Williams; Cisneros, 2001; Grzywacz; Moore, 2017).

Bioinseticidas virais constituídos por nucleopoliedrovírus têm sido formulados como pós molháveis e suspensões concentradas que contêm concentrações de OBs, usualmente variáveis entre $1,07 \times 10^9$ OBs/mL a $8,5 \times 10^9$ OBs/mL ou OBs/g. Já formulados de granulovírus, possuem concentrações de OBs maiores, na ordem de 1×10^{10} a 3×10^{10} OBs/mL ou OBs/g. As concentrações das formulações comerciais expressas g de ingrediente ativo por litro ou kg de produto, não tem significado, uma vez que o peso não é um indicador adequado da quantidade de partículas infectivas.

Os protocolos para elaboração de formulações visam preservar a atividade viral por períodos prolongados, prevenir o desenvolvimento de contaminantes, não causar obstruções no equipamento de aplicação, proteger o vírus da inativação pela luz solar ou exsudatos vegetais e facilitar a fixação do vírus na superfície da planta alvo. A elaboração de formulações complexas deve levar em consideração custos competitivos de mercado. Geralmente, nos produtos formulados como pós molháveis são usados como inertes talco, argilas, sílica, carboidratos ou produtos de origem vegetal (Williams; Cisneros, 2001). Nestas formulações, especial cuidado deve ser dado aos inertes que apresentam tendência absorver água do ambiente aumentando sua atividade de água (aw), a que deve ser mantida próxima a 0,2 aw para evitar a proliferação de contaminantes (Tapia et al., 2007). Portanto, a permeabilidade da embalagem também tem relação com a estabilidade dos valores de aw.

As suspensões concentradas utilizam como carreador ("carrier"), água, óleos vegetais e glicerol, este último para prevenir a proliferação de contaminantes (Burges; Jones, 1998). De maneira geral, as formulações para melhor preservação demandam temperaturas de armazenamento baixas. Por exemplo, baculovírus em formulações que não afetam sua atividade são mantidas a temperatura de -20 C permitindo sua preservação por pelo menos 30 anos.

A performance do produto no campo é dependente da atividade (virulência), dose aplicada e permanência do inoculo sobre o tecido alvo do inseto-praga. Assim, formulações que favorecem a fixação sobre esses tecidos e atuam como anteparos da luz ultravioleta podem favorecer a persistência dos corpos de oclusão no ambiente. Apesar dos numerosos trabalhos na literatura sobre esses aspectos

(Burgess; Jones, 1998; Behle; Birthisel, 2014; Grzywacz; Moore, 2017) pouco tem se evoluído no aprimoramento das formulações comerciais atuais, provavelmente devido a custos e a limitações na vida de prateleira.

Níveis de ação

Nível de ação corresponde ao momento apropriado para utilização da estratégia de controle considerando a infestação da praga ou a quantificação do dano observado visando controlar o crescimento da população e assim evitar a ocorrência de danos econômicos na produtividade da lavoura. Os níveis de ação relatados em grande parte variam com as recomendações das empresas. Espécies/cepas mais virulentas requerem níveis de ação que correspondem a densidades do inseto hospedeiro mais elevadas, ou seja, podem ser aplicadas mais tardiamente durante o crescimento da população da praga. Assim por exemplo, a lagarta-da-soja que é altamente suscetível a seu vírus e por isso requer uma dose menos elevada quando comparado a outras lagartas como *Helicoverpa armigera* ou *Chrysodeixis includens*, que são menos suscetíveis aos seus respectivos vírus (Sosa-Gómez, 2017). Por exemplo, o nível de ação de *A. gemmatalis* para uso do AgMNPV é quando são encontradas 20 lagartas menores de 1,5 cm por m linear de soja e as doses variam de $1,5$ a 3×10^{11} corpos de oclusão.ha⁻¹, já para *C. includens* são recomendadas duas aplicações, a primeira aplicação antes do fechamento do dossel, quando observadas as primeiras lagartas de primeiro a terceiro instar e segunda aplicação até uma densidade máxima de 20 lagartas 1,5 cm por m linear, com doses que variam de $7,5 \times 10^{11}$ a $1,5 \times 10^{12}$ corpos de oclusão.ha⁻¹. As menores doses devem ser aplicadas em épocas com condições de infestação baixa e com lagartas de 1 a 6 mm de tamanho (1 a 2 instar). As maiores doses devem ser utilizadas quando ocorrem lagartas de 3º instar (7 a 16 mm).

Mistura de baculovírus com outros agentes de controle

Devido à proteção das partículas virais pelos corpos de oclusão, os baculovírus de maneira geral apresentam maior resistência à inativação quando misturadas com agentes químicos (Moscardi; Sosa-Gómez, 1992). A utilização de misturas visa reduzir o tempo de morte, realçar a eficiência do vírus por meio do incremento dos níveis de mortalidade ou aumentar o tempo de persistência no ambiente. A compatibilidade de mistura de produtos à base de baculovírus com agrotóxicos é abordada no capítulo 27.

Interações de Baculovírus e outros agentes de controle microbiano

Os baculovírus podem ser aplicados simultaneamente com fungos ou bactérias entomopatogênicas. Aplicações do AgMNPV isoladamente ou em mistura com o fungo *Metarhizium rileyi*, indicaram eficiência similar para ambos os tratamentos. Já as aplicações de ChinNPV ocasionaram níveis semelhantes de mortalidade da lagarta-falsa-medideira pela mistura ChinNPV + *M. rileyi* e o vírus isoladamente, com a maior parcela (85%) das lagartas mortas pelo vírus na mistura (Lopes et al., 2020).

Aplicações conjuntas de AgMNPV com subdosagens de bionseticidas a base de *Bacillus thuringiensis* podem ser eficientes no controle de lagartas (Moscardi et al., 1987; Moscardi; Yoshikawa, 1988). Entretanto, deve ser lembrado que nestas circunstâncias a seleção de produtos de baixa seletividade, provocará a redução dos inimigos naturais e, conseqüentemente, os possíveis problemas de ressurgência de pragas.

As infecções mistas de vírus de diferentes espécies ou de variantes de um mesmo vírus ocorrem naturalmente (Rowley et al., 2011; Redman et al., 2016) apresentando interações sinérgicas em alguns casos (Guo et al., 2007) ou de competição com interferência negativa no processo de doença (Hackett et al., 2000). Interações entre vírus de diferentes famílias recentemente estudadas indicam que infecções mistas entre iflavírus e baculovírus podem afetar a patogenicidade do baculovírus sem afetar sua infectividade e produtividade de OBs e que ocorre uma oclusão do iflavírus com o OB do baculovírus (Jakubowska et al., 2016).

A formulação de baculovírus de diferentes espécies para ampliar o espectro de ação tem sido cada vez mais frequentes, permitindo o controle no caso de ocorrer concomitantemente diferentes espécies de lagartas. Atualmente, são comercializados produtos contendo misturas de diversas espécies (Mapa, 2022).

Interações entre Baculovírus e inimigos naturais

O uso de baculovírus na agricultura como uma das múltiplas abordagens do MIP está associado ao emprego harmônico de outras abordagens de formas de controle. Os parasitoides não são susceptíveis a infecções por baculovírus, mas seu ciclo no hospedeiro pode ser reduzido e seu tamanho pode ser diminuído em hospedeiros infectados pelo vírus (McCutchen et al., 1996). De maneira geral, os parasitoides podem transmitir vírus. Por outro lado, parasitoides podem causar redução da virulência e da produtividade dos baculovírus em seus hospedeiros parasitados suscetíveis; no entanto, estudos das ferramentas usadas por parasitoides himenópteros para superar o sistema imunológico de seus hospedeiros sugerem que os parasitoides podem, em alguns casos, facilitar infecções baculovirais em hospedeiros menos suscetíveis (Cossentine, 2009). Por exemplo, a concentração letal média do baculovírus *Helicoverpa armigera* nucleopolyhedrovirus (HearNPV) em larvas de *H. armigera* foi maior em larvas parasitadas que em larvas não-parasitadas por *Microplitis demolitor* (Murray et al., 1995). O mesmo, foi encontrado para o betabaculovírus *Agrotis segetum* granulovirus (AgseGV) em lagartas parasitadas por *Apanteles telengai* quando comparado com larvas não-parasitadas (Santiago-Alvarez; Caballero, 1990). No caso específico da interação da lagarta-do-cartucho *S. frugiperda* e seu baculovírus, não foi observado variação na virulência quando o hospedeiro estava parasitado com *C. insularis* (Escribano et al., 2001).

Vírus recombinantes HearNPV-cathL e HearNPV-AaIT que expressam uma catepsina e uma neurotoxina seletiva do escorpião *Androctonus australis* não apresentaram efeitos negativos sobre as populações de Coccinélidos, quando aplicados para o controle de *H. armigera* em algodão (Sun et al., 2009). Estudos realizados com predadores indicam a elevada compatibilidade dos predadores com baculovírus (Vasconcelos et al., 1996; Gutiérrez-Cárdenas et al., 2020). Por exemplo, percevejos predadores do gênero *Podisus* que se alimentam de lagartas-da-soja infectadas com AgMNPV não são afetados pelo vírus (Nardo et al., 2001), seus OBs podem transitar através do aparelho digestivo e ser depositados nas fezes facilitando sua dispersão (Figuras 8 A e 8 B).

Foto: Jovenil José da Silva



Foto: Diron G. Boucias

Figura 8. (A) *Podisus* sp. predando larva de *Anticarsia gemmatalis* infectada com AgMNPV. (B) Corpos de oclusão obtidos das fezes do percevejo predador, *Podisus maculiventris*.

Baculovírus em mistura com agroquímicos

Geralmente, baculoviroses podem ser utilizadas em conjunto com agroquímicos que não aumentam o pH da calda de aplicação, evitando assim a desestabilização dos OBs. Portanto, os vírus podem ser aplicados com herbicidas, fungicidas e inseticidas. Entretanto, a utilização conjunta pode não ser vantajosa, por exemplo, a mistura do bioinseticida (altamente seletivo) com um inseticida de mais amplo espectro, resulta em uma combinação cujo efeito não é seletivo. Contrastando, dessa maneira, com uma das principais características positivas do vírus que é a sua seletividade, o que permite a ação complementar de todos os inimigos naturais de ocorrência natural. A combinação do vírus com inseticidas seletivos é viável, porém, não é aconselhável sua utilização em forma repetida. Uma vez que sob intensa pressão de seleção por períodos prolongados é possível a seleção de populações resistentes.

Embora não desejável, uma prática utilizada para reduzir os custos de aplicação consiste em adicionar o vírus no momento de aplicação de herbicidas pós-emergentes, independente da densidade da praga. Portanto, é uma prática que não segue uma das premissas do manejo integrado de pragas, que consiste em realizar a aplicação somente quando necessária. Embora raramente relatada a ocorrência de resistência a viroses a campo, o uso generalizado dessa operação aumenta o risco da ocorrência deste fenômeno.

De acordo com Moscardi e Sosa-Gómez (1992), as misturas de AgMNPV com baixas doses de inseticidas (1/4 a 1/8 das doses recomendadas) foram eficientes para reduzir a população de *A. gemmatalis* quando o nível de ação (vinte lagartas menores de 1,5 cm por m de linha) para aplicar o vírus só, foi superado.

Baculovírus e substâncias que realçam sua eficácia

Na tentativa de conter a limitação de sua persistência sobre as superfícies expostas aos raios solares, muitos estudos focam na descoberta de aditivos para formulações que aumentem a persistência do inseticida na lavoura, como é o caso de branqueadores ópticos (Shapiro, 1992; Shapiro; Farrar, 2003) e óxidos de metais como o dióxido de titânio e de zinco (Farrar et al., 1999; Tamez-Guerra et al., 2000; Wilson et al., 2020). A maior atividade dos vírus em mistura tem sido demonstrada em *A. gemmatalis* nas combinações do AgMNPV com formulações de Blankophor HRS, Blankophor RKH e Tinopal UNPA-GX (Morales et al., 2001). Em *S. frugiperda*, os bioensaios de SfMNPV com Blankophor BBH and

Calcofluor M2R indicaram maior atividade inseticida (Martínez et al., 2003). Aumento da atividade também tem sido encontrada em *H. armigera* quando inoculados simultaneamente com o seu vírus o branqueador Tinopal F-3543 (Mehrvar, 2013). Entretanto, esta maior atividade expressa pela redução da concentração letal média e redução do tempo médio de mortalidade relatada em condições controladas deve ser verificada a campo. Estudos realizados com o vírus de *C. includens* em parcelas infestadas artificialmente com lagartas de segundo a quarto instar indicam que a eficiência do vírus pode ser aumentada pela adição de Blankophor BBH a 1% (Zou; Young, 1996). De maneira geral, estas substâncias têm um custo maior que o ingrediente ativo (McGuire et al., 2001), fazendo com que o custo seja impraticável, no momento, para a maioria dos sistemas de produção.

Interação entre processo de infecção e a planta hospedeira

A influência das plantas hospedeiras na susceptibilidade a doenças entomopatogênicas em insetos-pragas tem sido revisada por diversos autores (Cory; Hoover, 2006; Sosa-Gómez, 2012). Especificamente, nas interações que envolvem a cultura da soja tem sido determinada, que formulações baseadas no baculovírus isolado da lagarta *Anagrapha falcifera* apresentaram seis vezes maior letalidade em larvas de *Trichoplusia ni* quando expostas a folhas de soja, quando comparada a exposição a folhas de algodão, repolho e feijão verde, apontando uma influência importante da planta hospedeira com a eficácia viral (Hay et al., 2020). Os pesquisadores determinaram que o aumento da atividade inseticida, era devida a três flavonoides (daidzeína, genisteína e kaempferol), encontrado apenas em soja e não detectados em algodão, repolho e feijão verde, eram os responsáveis pelo aumento na susceptibilidade. Assim, os três flavonoides juntos melhoraram sinergisticamente a atividade contra *T. ni* em soja. Quando aplicados individualmente, os flavonoides não demonstraram um aumento tão robusto quando comparado a combinação dos três (Hay et al., 2020).

Recentemente, tem sido demonstrado como a dieta pode afetar a estrutura da matriz peritrófica (PM), presente no intestino médio de larvas de *Trichoplusia ni* e, conseqüentemente, sua susceptibilidade ao baculovírus AcMNPV. Lagartas criadas em folhas de batata apresentaram níveis de transcrição mais baixos para os genes quitinase e quitina desacetilase, e possuíam matriz peritrófica mais espessa que aquelas criadas com repolho ou dieta artificial, o que poderia contribuir para sua susceptibilidade menor ao baculovírus. As conseqüências dessas mudanças realçam a importância da influência da dieta na susceptibilidade do patógeno nas estratégias de manejo de pragas (Chen et al., 2018).

Não está clara a influência de compostos fitoquímicos produzidos por plantas hospedeiras na susceptibilidade a baculovírus por insetos-pragas. De forma simplificada, existe uma complexidade de interações que coevoluem para três importantes personagens que protagonizam o controle biológico dependido por baculovírus: a espécie de inseto alvo do controle, a espécie da planta hospedeira com todo seu arsenal fitoquímico e o isolado viral com suas características genéticas e diversidade populacional.

Modificações genéticas que visam maior eficácia de utilização de baculovirose na cultura da soja

Uma desvantagem do uso de baculovírus em relação aos inseticidas químicos para o controle de insetos-praga é o relativamente longo tempo que leva para o vírus matar o inseto depois da infecção. Para tentar resolver ou diminuir essa limitação, vários pesquisadores ao redor do mundo realizam pesquisas com baculovírus geneticamente modificados (GM) visando o aumento na velocidade de ação inseticida do vírus desde o final da década de 80. Diferentes genes foram introduzidos no genoma dos baculovírus com essa finalidade, sendo os genes de neurotoxinas derivados de artrópodes, específicas para insetos, os que mais aumentaram a atividade inseticida (Kamita et al., 2017). Esses vírus GM podem diminuir em até 50%, o tempo necessário para induzir a morte do inseto infectado quando comparado ao vírus selvagem (Stewart et al., 1991; Tomalski; Miller, 1992). Além dos genes de neurotoxinas, outros genes foram introduzidos no genoma de baculovírus e mostraram atividade inseticida aumentada, como por exemplo, genes que codificam proteínas que controlam o metabolismo e/ou metamorfose dos insetos como a enzima esterase do hormônio juvenil (Hammock et al., 1990; Eldrigde et al., 1992), hormônio diurético (Maeda, 1989), proteases (Harrison; Bonning, 2001; Gramkow et al., 2010), quitinases (Kramer et al., 1997), genes de outros vírus, como o *Cotesia rubecula* PDV gene (CrV1), que está envolvido na despolimerização de actina dos hemócitos do inseto hospedeiro, interferindo com a resposta celular contra vírus e outros microrganismos (Wei et al., 2016), enhancinas de certos betabaculovírus, que danificam a membrana peritrófica do inseto, facilitando a entrada de vírus nas células intestinais (Popham et al., 2001) e genes de toxinas Cry de *Bacillus thuringiensis* (Ribeiro; Crook, 1993, 1998; Chang et al., 2003).

Os baculovírus (encontrados na natureza e os geneticamente modificados) são uma alternativa viável para o controle de insetos-praga, especialmente onde os inseticidas químicos não são mais efetivos, são economicamente inviáveis ou em cultivos orgânicos. Apesar de serem estudados há várias décadas tanto em laboratório como em testes de campo, o uso de baculovírus GM ainda é restrito. As principais preocupações em relação ao uso de baculovírus GM seriam o possível efeito em espécies não-alvo, transferência do gene inseticida para outros organismos e aumento na replicação viral e sobrevivência aumentada no meio ambiente (Kamita et al., 2017). Entretanto, testes de campo nas últimas décadas com diferentes baculovírus GM tem mostrado pouco ou nenhum efeito desses vírus em espécies não-alvo e uma baixa persistência no meio ambiente (Cory et al., 1994; Levidow, 1995; Sun et al., 2004).

Gene *egt*

O hormônio ecdisona é responsável pela regulação de várias vias metabólicas envolvidas no crescimento, maturação sexual e metamorfose dos insetos (Yamanaka et al., 2013). Muitos baculovírus possuem o gene ecdisteroide UDP-glicosiltransferase (*egt*) que codifica a enzima EGT (Rohrmann, 2019). Essa enzima inativa o hormônio ecdisona adicionando a ele, unidades de UDP-galactose ou UDP-glicose (Evans; O'Reilly, 1998; Pinedo et al., 2003). Essa inativação da ecdisona gera uma parada na metamorfose do inseto, fazendo com que ele se mantenha na fase larval por mais tempo alimentando-se e, conseqüentemente, produzindo mais vírus. Na década de 90, foi mostrado que o gene *egt* do baculovírus AcMNPV não é essencial para a replicação do baculovírus nas células do seu inseto hospedeiro

(O'Reilly; Miller, 1990) e que, a inativação desse gene por engenharia genética afetava o crescimento e desenvolvimento da larva do inseto infectado (O'Reilly; Miller, 1991). A inativação desse gene no genoma do AcMNPV, resultou em um vírus capaz de acelerar a morte de seu hospedeiro e diminuir o tempo em que o inseto se alimenta, melhorando sua atividade inseticida. No Brasil, o genoma do baculovírus *Anticarsia gemmatalis* multiple nucleopolyhedrovirus (AgMNPV) foi modificado pela inativação do gene *egt* (Pinedo et al., 2003), o que também resultou em um vírus eficaz em acelerar a morte do seu inseto hospedeiro. O AgMNPV recombinante contendo a deleção no gene *egt* reduziu em 20% A TL₅₀ quando comparado com o vírus selvagem. Simón et al. (2012) atribuíram a deleção natural do gene *egt* do baculovírus SfMNPV, isolados nos Estados Unidos e Nicarágua, com uma maior mortalidade do inseto hospedeiro quando comparado com outros isolados naturais contendo o gene. A deleção do gene *egt* de outros baculovírus como o HearNPV (Chen et al., 2000) e o *Lymantria dispar* nucleopolyhedrovirus (LdMNPV) (Slavicek et al., 1999), também confirmaram esses resultados.

Genes *v-cath* e *Chi-A*

Durante os momentos finais da infecção por baculovírus, o inseto infectado para de se locomover e de se alimentar e a cutícula se torna frágil e de coloração esbranquiçada pela acumulação de OBs no núcleo da maioria das células (Federici, 1997). Quando o inseto morre, ocorre o escurecimento (melanização) da cutícula, que se desfaz ou liquefaz, liberando os OBs no meio ambiente (Volkman; Keddie, 1990). A liberação dos OBs no meio ambiente é resultado da expressão de uma cisteíno-protease denominada V-CATH e de uma quitinase denominada ChiA codificadas no genoma de diferentes espécies de baculovírus, que agem na desintegração da cutícula do inseto resultando em uma maior dispersão do vírus no meio ambiente (Ohkawa et al., 1994; Slack; Falkner, 1995). O baculovírus *Anticarsia gemmatalis* multiple nucleopolyhedrovirus (AgMNPV) e outros baculovírus não possuem os genes *chiA* and *v-cath* (Oliveira et al., 2006; Castro et al., 2017). Essa característica do AgMNPV faz com que não haja a liquefação da larva infectada imediatamente após a sua morte (Oliveira et al., 2006, Lima et al., 2013). Estes genes presentes em alguns genomas de baculovírus e ausente em outros são denominados de auxiliares por não serem essenciais para a replicação viral, mas poderem dar uma vantagem seletiva para quem os possuem (Rohrmann, 2019). Foi demonstrado que a expressão desses genes na fase final da infecção e o sinergismo entre as proteínas V-CATH e ChiA promovem a liquefação da cutícula da larva infectadas (Hawtin et al., 1997) e facilitam a coleta e processamento dos insetos após a morte pela infecção viral, o que é importante para a formulação do bioinseticida à base de baculovírus. Além disso, a deleção desses genes resulta em baculovírus mutantes incapazes de liquefazer a larva infectada logo após a sua morte (Ohkawa et al., 1994; Slack; Falkner, 1995; Daimon et al., 2006). Valicente et al. (2008), isolou um mutante natural do vírus SfMNPV incapaz de liquefazer o tegumento de larvas da lagarta-do-cartucho do milho (*S. frugiperda*), o que facilitou a produção desse vírus em laboratório. Esse vírus possui uma deleção de uma base nitrogenada (Adenina) na posição 297 do gene *chiA*, resultando em uma mudança de fase de leitura e consequentemente, uma proteína truncada na sua porção C-terminal (Vieira et al., 2012). Lima et al. 2013, introduziram os genes *chiA* and *v-cath* derivados do baculovírus *Choristoneura fumiferana* defective nucleopolyhedrovirus (CfDefNPV) no genoma do AgMNPV resultando em um vírus recombinante capaz

de melanizar e liquefazer larvas de *A. gemmatilis* logo após sua morte pela infecção viral. Além disso, ocorreu uma maior produção de poliedros e uma quantidade de vírus recombinante menor foi capaz de induzir a morte das larvas quando comparado ao vírus selvagem.

Considerações finais

Diversas espécies da família *Baculoviridae* são importantes agentes de controle microbiano. A expansão do seu uso está atrelada ao reconhecimento do seu potencial controle, facilidade de criação de seus hospedeiros e importância econômica da praga alvo. O treinamento adequado dos agentes de extensão e o comprometimento na preservação de parasitoides e predadores de ocorrência natural das pragas. Sua característica de elevada seletividade os torna coadjuvantes no processo de regulação da densidade de insetos praga, complementada por outros inimigos naturais. Desde a detecção da ocorrência de *H. armigera* em 2013, o uso desse grupo de entomopatógenos tem crescido exponencialmente. Atualmente no Brasil, constam diversos produtos cujos ingredientes ativos são baculovírus (AcMNPV, AgMNPV, ChinNPV, HearNPV, SfMNPV) e outros utilizados artesanalmente, como os baculovírus de *Erinnyis ello*, *Condylorrhiza vestigialis*, e vírus de outros grupos infectando *Opsiphanes invirae* e *Sibine* sp. Portanto, existe demanda por produtos à base de vírus, como por exemplo para o controle de pragas que atualmente ocorrem com maior prevalência como a falsa medideira, *Rachiplusia nu*, e a broca dos ponteiros, *Crosocidosema aporema*, cujas viroses são conhecidas e apresentam potencial de utilização.

Referências

- ANDRADE, C. F. S. Estudos ecológicos e patológicos de poliedrose nuclear de *Alabama argillacea* (Hubner, 1818) (Lepidoptera, Noctuidae). 1981. 153 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- ARDISSON-ARAÚJO, D. M. P.; ROHRMANN, G. F.; RIBEIRO, B. M.; CLEM, R. J. Functional characterization of hesp018, a baculovirus-encoded serpin gene. *Journal of General Virology*, v. 96, pt 5, p. 1150-1160, 2015.
- ARRIZUBIETA, M.; SIMÓN, O.; WILLIAMS, T. CABALLERO, P. Genomic sequences of five *Helicoverpa armigera* nucleopolyhedrovirus genotypes from Spain that differ in their Insecticidal Properties. *Genome Announcements*, v. 3, n. 3, e00548-15, 2015.
- BEHLE, R.; BIRTHISEL, T. Formulations of Entomopathogens as Bioinsecticides. In: MORALES-RAMOS, J. A.; ROJAS, M. G.; SHAPIRO-IAN, D. I. (Eds.) *Mass Production of Beneficial Organisms*. Amsterdam: Elsevier, 2014. p. 483-517.
- BRITO, A. F.; BRACONI, C. T.; WEIDMANN, M.; DILCHER, M.; ALVES, J. M.; GRUBER, A.; ZANOTTO, P. M. A. The Pangenome of the *Anticarsia gemmatilis* multiple Nucleopolyhedrovirus (AgMNPV). *Genome biology and evolution*, v. 8, n. 1, p. 94-108, 2015.
- BRITO, A. F.; MELO, F. L.; ARDISSON-ARAÚJO, D. M. P.; SIHLER, W.; SOUZA, M. L.; RIBEIRO, B. M. Genome-wide diversity in temporal and regional populations of the betabaculovirus *Erinnyis ello* granulovirus (ErelGV). *BMC Genomics*, v. 19, p. 698, 2018.
- BURGES, H. D.; JONES, K. A. Formulation of bacteria, viruses and protozoa to control insects. In: BURGES, H. D. (Ed.) *Formulation of Microbial Biopesticides: Beneficial microorganisms, nematodes and seed treatments*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1998. p. 33-127.
- CARPES, M. P.; SAMPAIO, T. L.; CASTRO, M. E. B.; ZANOTTO, P. M. A.; RIBEIRO, B. M. Molecular analysis of a mutant *Anticarsia gemmatilis* multiple nucleopolyhedrovirus (AgMNPV) shows an interruption of an inhibitor of apoptosis gene (*iap-3*) by a new class-II piggyBac-related insect transposon. *Insect Molecular Biology*, v. 18, p. 747-757, 2009.
- CASTRO, M. E. B.; MELO, F. L.; TAGLIARI, M.; INGLIS, P. W.; CRAVEIRO, S. R.; RIBEIRO, Z. M. A.; RIBEIRO, B. M.; BÃO, S. N. The genome sequence of *Condylorrhiza vestigialis* NPV, a novel Baculovirus for the control of the alamo moth on *Populus* spp. in Brazil. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 148, p. 152-161, 2017.
- CHANG, J. H.; CHOI, J. Y.; JIN, B. R.; ROH, J. Y.; OLSZEWSKI, J. A.; SEO, S. J.; O'REILLY, D. R.; JE, Y. H. An improved baculovirus insecticide producing occlusion bodies that contain *Bacillus thuringiensis* insect toxin. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 84, p. 30-37, 2003.

- CHATEIGNER, A.; BEZIER, A.; LABROUSSE, C.; JIOLLE, D.; BARBE, V.; HERNIOU, E. A. Ultra deep sequencing of a Baculovirus population reveals widespread genomic variations. **Viruses**, v. 7, n. 7, p. 3625-3646, 2015.
- CHEN, X.; SUN, X.; HU, Z.; LI, M.; O'REILLY, D. R.; ZUIDEMA, D.; VLAK, J. M. Genetic engineering of *Helicoverpa armigera* single nucleocapsid nucleopolyhedrovirus as an improved pesticide. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 76, p. 140-146, 2000.
- CHEN, E.; KOLOSOV, D.; O'DONNELL, M. J.; ERLANDSON, M. A.; MCNEIL, J. N.; DONLY, C. The effect of diet on midgut and resulting changes in infectiousness of AcMNPV baculovirus in the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. **Frontiers in Physiology**, v. 9, article 1348, 2018. 11 p.
- CHEN, X.; ZHANG, W. J.; WONG, J.; CHUN, G.; LU, A.; MCCUTCHEM, B. F.; PRESNAIL, J. K.; HERRMANN, R.; DOLAN, M.; TINGEY, S.; HU, Z. H.; VLAK, J. M. Comparative analysis of the complete genome sequences of *Helicoverpa zea* and *Helicoverpa armigera* single-nucleocapsid nucleopolyhedroviruses. **Journal of General Virology**, v. 83, n. 3, p. 673-684, mar. 2002.
- CLAUS, J. D.; SCIOCCO DE CAP, A. Producción masiva de baculovirus. In: CABALLERO, P.; LÓPEZ-FERBER, M.; WILLIAMS, T. (Eds.). **Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticida em el control biológico de plagas**. Valencia: Phytoma, 2001. p. 257-312.
- COSENTINE, J. E. The parasitoid factor in the virulence and spread of lepidopteran baculoviruses. **Virologica Sinica**, v. 24, p. 305-314, 2009.
- CORY, J. S.; HIRST, M. L.; WILLIAMS, T.; HAILS, R. S.; GOULSON, D.; GREEN, B. M.; CARTY, T. M.; POSSEE, R. D.; CAYLAY, P. J.; BISHOP, D. H. L. Field trial of a genetically improved baculovirus insecticide. **Nature**, v. 370, p. 138-140, 1994.
- CORY, J.; HOOVER, K. Plant-mediated effects in insect-pathogen interactions. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 21, p. 278-286, 2006.
- CRAVEIRO, S. R.; INGLIS, P. W.; TOGAWA, R. C.; GRYNBERG, P.; MELO, F. L.; RIBEIRO, Z. M. A.; RIBEIRO, B. M.; BÃO, S. N.; CASTRO, M. E. B. The genome sequence of *Pseudoplusia includens* single nucleopolyhedrovirus and an analysis of p26 gene evolution in the baculoviruses. **BMC Genomics**, v. 16, n. 1, 127, 2015. 12 p.
- CUARTAS, P. E.; BARRERA, G. P.; BELAICH, M. N.; BARRETO, E.; GHIRINGHELLI, P. D.; VILLAMIZAR, L. F. The complete sequence of the first *Spodoptera frugiperda* Betabaculovirus genome: a natural multiple recombinant virus. **Viruses**, v. 7, p. 394-421, 2015.
- DAIMON, T.; SUSUMU, K.; KANG, W.; SHIMADA, T. Comparative studies of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus chitinase and its host ortholog, BmChi-h. **Biochemical and Biophysical Research Communication**, v. 345, p. 825-833, 2006.
- EBERLE, K. E.; JEHELE, J. A.; HUBER, J. Microbial control of crop pests using insect viroses. In: ABROL, D. P.; SHANKAR, U. (Eds.). **Integrated Pest Management: Principles and Practice**. Wallingford: CABI Publishing, 2012. p. 281-298.
- ERLANDSON, M. A. Genetic variation in field populations of baculoviruses: mechanisms for generating variation and its potential role in baculovirus epizootiology. **Virologica Sinica**, v. 24, n. 5, p. 458, 2009.
- ELDRIDGE, R.; O'REILLY, D. R.; HAMMOCK, B. D.; MILLER, L. K. Insecticidal properties of genetically engineered baculovirus expressing an insect juvenile hormone esterase gene. **Applied Environmental Microbiology**, v. 58, p. 1583-1591, 1992.
- EVANS, O. P.; O'REILLY, D. R. Purification and kinetic analysis of baculovirus ecdysteroid UDP-glucosyltransferase. **Biochemical Journal**, v. 330, p. 1265-1270, 1998.
- ESCRIBANO, A.; WILLIAMS, T.; GOULSON, D.; CAVE, R. D.; CHAPMAN, J. W.; CABALLERO, P. Consequences of interspecific competition on the virulence and genetic composition of a nucleopolyhedrovirus in *Spodoptera frugiperda* larvae parasitized by *Chelonus insularis*. **Biocontrol**, v. 11, p. 649-662, 2001.
- FARRAR, R. R.; RIDGWAY, R. L.; DIVELY, G. P. Activity and persistence of the nuclear polyhedrosis virus of the celery looper (Lepidoptera: Noctuidae) with a feeding stimulant and a stilbene-derived enhancer. **Journal of Entomological Science**, v. 34, n. 4, p. 369-380, 1999.
- FEDERICI, B. A. Baculovirus pathogenesis. In: MILLER, L. K. (Ed.). **The Baculoviruses**. Boston: Springer, 1997. p. 33-59.
- FERREIRA, B. C.; SILVA, A. M. R.; SANCHES, M. M.; MOSCARDI, F.; RIBEIRO, B. M. Biological and molecular characterization of two *Anticarsia gemmatalis* multiple nucleopolyhedrovirus clones exhibiting contrasting virulence. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 164, p. 23-31, 2019.
- GRAMKOW, A. W.; PERECMANIS, S.; SOUSA, R. L. B.; NORONHA, E. F.; FELIX, C. R.; NAGATA T.; RIBEIRO, B. M. Insecticidal activity of two proteases against *Spodoptera frugiperda* larvae infected with recombinant baculoviruses. **Virology Journal**, v. 7, p. 143, 2010.
- GRZYWACZ, D. Basic and Applied research: Baculovirus. In: LACEY, L. (Ed.). **Microbial Control of Insect and Mite Pests: From Theory to Practice**. Amsterdam: Academic Press Elsevier, 2017. p. 27-46.
- GRZYWACZ, D.; MOORE, S. Production, formulation, and bioassay of baculoviruses for pest control. In: LACEY, L. (Ed.). **Microbial Control of Insect and Mite Pests: From Theory to Practice**. Amsterdam: Academic Press Elsevier, 2017. Ch. 7. p. 109-124.
- GRZYWACZ, D.; RABINDRA, R. J.; BROWN, M.; JONES, K. A.; PARNELL, M. **Helicoverpa armigera Nucleopolyhedrovirus Production Manual**. Natural Resources Institute. 107 pp. 2004. Disponível em: <http://www.fao.org/docs/eims/upload/agrotech/2011/HaNPVmanual-pt1.pdf>

- GUO, H. F.; FANG, J. C.; WANG, J. P.; ZHONG, W. F.; LIU B. S. Interaction of *Xestia c-nigrum* granulovirus with peritrophic matrix and Spodoptera litura nucleopolyhedrovirus in *Spodoptera litura*. **Journal of Economic Entomology**, v. 100, n. 1, p. 20-25, 2007.
- GUTIÉRREZ-CÁRDENAS, O. G.; ADÁN, Á.; BEPERET, I.; MEDINA, P.; CABALLERO, P.; GARZÓN, A. The Role of *Chrysoperla carnea* (Steph.) (Neuroptera: Chrysopidae) as a Potential Dispersive Agent of Noctuid Baculoviruses. **Insects**, v. 11, n. 11, 760, 2020.
- HACKETT, K. J.; BOORE, A.; DEMING, C.; BUCKLEY, E.; CAMP, M.; SHAPIRO, M. Helicoverpa armigera granulovirus interference with progression of H. zea nucleopolyhedrovirus disease in H. zea larvae. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 75, n. 2, p. 99-106, 2000.
- HAMMOCK, B. D.; BONNING, B. C.; POSSEE, R. D.; HANZLIK, T. N.; MAEDA, S. Expression and effects of the juvenile-hormone esterase in a baculovirus vector. **Nature**, v. 344, p. 458-461, 1990.
- HARRISON, R. L.; BONNING, B. C. Use of proteases to improve the insecticidal activity of baculoviruses. **Biological Control**, v. 20, p. 199-209, 2001.
- HAWTIN, R. E.; ZARKOWSKA, T.; ARNOLD, K.; THOMAS, C. J.; GOODAY, G. W.; KING, L. A.; KUSIO, J. A.; POSSEE, R. D. Liquefaction of Autographa californica nucleopolyhedrovirus-infected insects is dependent on the integrity of virus-encoded chitinase and cathepsin genes. **Virology**, v. 238, p. 243-253, 1997.
- HAY, W. T.; BEHLE, R. W.; BERHOW, M. A.; MILLER, A. C.; SELLING, G. W. Biopesticide synergy when combining plant flavonoids and entomopathogenic baculovirus. **Science Report**, v. 10, 6806, 2020. 9 p. doi: 10.1038/s41598-020-63746-6.
- HUNTER-FUJITA, F. R.; ENTWISTLE, P. F.; EVANS, H. F.; CROOK, N. E. VIRUS production. In: HUNTER-FUJITA, F. R.; ENTWISTLE, P. F.; EVANS, H. F.; CROOK, N. E. (Eds.). **Insect viruses and pest management**. [S. l.] Wiley, 1998. p. 92-116.
- INGLIS, P. W.; SANTOS, L. A. V. M.; CRAVEIRO, S. R.; RIBEIRO, B. M.; CASTRO, M. E. B. Mosaic genome evolution and phylogenetics of *Chrysodeixis includens* nucleopolyhedrovirus (ChinNPV) and virulence of seven new isolates from the Brazilian states of Minas Gerais and Mato Grosso. **Archives of Virology**, v. 166, p. 125-138, 2020.
- JAKUBOWSKA, A. K.; MURILLO, R.; CARBALLO, A.; WILLIAMS, T.; VAN LENT, J. W. M.; CABALLERO, P.; HERRERO, S. I flavivirus increases its infectivity and physical stability in association with baculovirus. **PeerJ**, v. 4, e1687, 2016.
- JONES, K. A.; BURGESS, H. D. Technology of formulation and application. In: BURGESS, H. D. (Ed.). **Formulation of Microbial Biopesticides: Beneficial microorganisms, nematodes and seed treatments**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1998. p. 7-30.
- KAMITA, S. G.; KANG, K.-D.; INCEOGLU, A. B.; HAMMOCK, B. D. Genetically modified Baculoviruses for pest insect control. In: ROITBERG, B. D. (Ed.). **Reference Module in Life Sciences**. [S. l.]: Elsevier, 2017. p.331-369. DOI:10.1016/b978-0-12-809633-8.04074-7
- KINARD, G. R.; BARNETT, O. W.; CARNER, G. R. Characterization of an Iridescent Virus Isolated from the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatilis*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 66, p. 258-263, 1995.
- KRAMER, K. J.; MUTHUKRISHNAN, S. Insect chitinases: Molecular biology and potential use as biopesticides. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 27, p. 887-900, 1997.
- LEVIDOW, L. The Oxford baculovirus controversy: safely testing safety? **BioScience**, v. 45, n. 8, p. 545-551, Sept. 1995.
- LIMA, A. A.; ARAGÃO, C. W. S.; CASTRO, M. E. B.; OLIVEIRA, J. V. C.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; RIBEIRO, B. M. A Recombinant *Anticarsia gemmatilis* MNPV harboring *chiA* and *v-cath* genes from *Choristoneura fumiferana* defective NPV induce host liquefaction and increased insecticidal activity. **Plos One**, v. 8, e74592, 2013.
- LOPES, R. B.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; OLIVEIRA C. M.; SANCHES, M. M.; SOUZA, D. A.; BENITO N. P.; SCHMIDT, F. G. V.; FARIA, M. Efficacy of an oil-based formulation combining *Metarhizium rileyi* and nucleopolyhedroviruses against lepidopteran pests of soybean. **Journal of Applied Entomology**, v. 144, n. 8, p. 678-689, 2020.
- LUCENA, C. C. de; SILVEIRA, H. F. da; RINGENBERG, R.; RANGEL, M. A. S. **Diagnóstico da situação atual do manejo de artrópodos e pragas na cultura da mandioca na região Centro-Sul do Brasil**. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2017. 37p. (Embrapa Mandioca e Fruticultura. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 90).
- MAEDA, S. Increased insecticidal effect by a recombinant baculovirus carrying a synthetic diuretic hormone gene. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 165, p. 1177-1183, 1989.
- MAPA. **Agrofit: consulta aberta**. 2022. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agro_fit_cons>. Acesso em: 21 mar. 2022.
- MARTÍNEZ, A. M.; SIMÓN, O.; WILLIAMS, T.; CABALLERO, P. Effect of optical brighteners on the insecticidal activity of a nucleopolyhedrovirus in three instars of *Spodoptera frugiperda*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 109, n. 2, p. 139-146, 2003.
- MARUNIAK, J. E.; GARCIA-MARUNIAK, A.; SOUZA, M. L.; ZANOTTO, P. M. A.; MOSCARDI, F. Physical maps and virulence of *Anticarsia gemmatilis* nucleopolyhedrovirus genomic variants. **Archives of Virology**, v. 144, n. 10, p. 1991-2006, 1999.

- MCCUTCHEN, B. F.; HERRMANN, R.; HEINZ, K. M.; PARRELLA, M. P.; HAMMOCK, B. D. Effects of recombinant baculoviruses on a nontarget endoparasitoid of *Heliothis virescens*. **Biological Control**, v. 6, p. 45-50, 1996.
- MEHRVAR, A. Synergistic effects of optical brighteners on the insecticidal activities of Iranian nucleopolyhedrosis isolates against *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. **Acta Entomologica Sinica**, v. 56, n. 6, p. 708-714, 2013.
- MCGUIRE, M. R.; TAMEZ-GUERRA, P.; BEHLE, R. W.; STRETT, D. A. Comparative field stability of selected entomopathogenic virus formulations. **Journal Economic Entomology**, v. 94, n. 5, p. 1037-1044, 2001.
- MIELE, S. A.; GARAVAGLIA, M. J.; BELAICH, M. N.; GHIRINGHELLI, P. D. Baculovirus: molecular insights on their diversity and conservation. **International Journal of Evolutionary Biology**, v. 2011, Article ID 379424, 2011.
- MITCHELL, F. L.; SMITH, G. E.; SMITH JR, J. W. Characterization of an entomopoxvirus of the lesser cornstalk borer (*Elasmopalpus lignosellus*). **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 42, p. 299-305, 1983.
- MORALES, L.; MOSCARDI, F.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; PARO, F. E.; SOLDORIO, I. Fluorescent brighteners improve *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae) nucleopolyhedrovirus (AgMNPV) activity on AgMNPV-susceptible and resistant strains of the insect. **Biological Control**, v. 20, n. 3, p. 247-253, 2001.
- MOSCARDI, F. Assessment of the application of Baculoviruses for control of Lepidoptera. **Annual Review of Entomology**, v. 44, p. 257-289, 1999.
- MOSCARDI, F.; LEITE, L. G.; ARAÚJO, M. S.; FERRAZ, E. B. Controle da lagarta da soja por misturas de Baculovirus anticarsia com doses reduzidas de inseticidas. In: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja (Londrina, PR). **Resultados de pesquisa de soja 1985/86**. Londrina, 1987. p. 58-65. (EMBRAPA-CNPSo. Documentos, 20).
- MOSCARDI, F.; LEITE, L. G.; ZAMATARO, C. E. Production of nuclear polyhedrosis virus of *Anticarsia gemmatilis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae): Effect of virus dosage, host density and age. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 26, n. 1, p. 121-132, 1997.
- MOSCARDI, F.; SOSA-GÓMEZ, D. R. Use of Viruses Against Soybean Caterpillars in Brazil. In: COPPING, L. G.; GREEN, M. B.; REES, R. T. (Eds). **Pest Management in Soybean**. Dordrecht: Springer, 1992. p. 98-109.
- MOSCARDI, F.; SOSA-GOMEZ, D. R. Microbial control of insect pests of soybean. In: LACEY, L. A.; KAYA, H. K. (Ed.). **Field manual of techniques in invertebrate pathology: application and evaluation of pathogens for control of insects and other invertebrate pests**. Dordrecht: Kluwer, 2000. p. 447-466.
- MOSCARDI, F.; YOSHIKAWA, J. N. Controle da lagarta da soja por misturas de Baculovirus anticarsia com doses reduzidas de inseticidas. In: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja (Londrina, PR). **Resultados de pesquisa de soja 1986/87**. Londrina, 1988. p. 50-51. (EMBRAPA-CNPSo. Documentos, 28).
- MUÑOZ, D.; MURILLO, R.; KRELL, P. J.; VLAK, J. M.; CABALLERO, P. Four genotypic variants of a Spodoptera exigua nucleopolyhedrovirus (Se-SP2) are distinguishable by a hypervariable genomic region. **Virus Research**, v. 59, p. 61-74, 1999.
- MURRAY, D. A. H.; MONSOUR, C. J.; TEAKLE, R. E.; RYNNE, K. P.; BEAN, J. A. Interactions between nuclear polyhedrosis virus and three larval parasitoids of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of the Australian Entomological Society**, v. 34, p. 319-322, 1995.
- NARDO, E. A. B. de; MAIA, A. H. N.; WATANABE, M. A. Effect of a formulation of *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae) nuclear polyhedrosis virus on the predator *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae: Asopinae), using the fertility life table parameters. **Environmental Entomology**, v. 30, n. 6, p. 1164-1173, 2001.
- OHKAWA, T.; MAJIMA, K.; MAEDA, S. A cysteine protease encoded by the baculovirus *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus. **Journal of Virology**, v. 68, p. 6619-6625, 1994.
- OLIVEIRA, J. V. C.; WOLFF, C. L. J.; MARUNIAK-GARCIA, A.; RIBEIRO, B. M.; CASTRO, M. E. B.; MOSCARDI, F.; MARUNIAK, J. E.; ZANOTTO, P. M. de A. Genome of the most widely used viral biopesticide: *Anticarsia gemmatilis* multiple nucleopolyhedrovirus. **Journal of General Virology**, v. 87, p. 3233-3250, 2006.
- OLIVEIRA, L. B. de; PETERSON, L.; SANTOS, E. R. dos; ARDISSON-ARAÚJO, D. M. P.; RIBEIRO, B. M.; SOSA-GÓMEZ, D. R. Molecular, ultrastructural, and pathological characterization of *Spodoptera cosmoidea* multiple nucleopolyhedrovirus, the first baculovirus harboring a nad-glutamate dehydrogenase. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VIROLOGIA, 28.; ENCONTRO DE VIROLOGIA DO MERCOSUL, 12., 2017, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: UFMG, 2017. trabalho n° 403.
- O'REILLY, D. R.; MILLER, L. K. Regulation of expression of a baculovirus ecdysteroid UDP-glucosyltransferase gene. **Journal of Virology**, v. 64, p. 1321-1328, 1990.
- O'REILLY, D. R.; MILLER, L. K. Improvement of a baculovirus pesticide by deletion of the egt gene. **Bio/Technology**, v. 9, p. 1086-1089, 1991.

- PETERSON, L.; SANTOS, E. R. dos; OLIVEIRA, L. B. de; SOSA-GÓMEZ, D. R.; RIBEIRO, B. M.; ARDISON-ARAÚJO, D. M. P. Characterization and phylogenetic analysis of a new baculovirus: *Mythimna seax* nucleopolyhedrovirus. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VIROLOGIA, 28.; ENCONTRO DE VIROLOGIA DO MERCOSUL, 12., 2017, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: UFMG, 2017. trabalho nº 176.
- PINEDO, F. J. R.; MOSCARDI, F.; LUQUE, T.; OLSZEWSKI, J. A.; RIBEIRO, B. M. Inactivation of the ecdysteroid UDP-glucosyltransferase (*egt*) gene of *Anticarsia gemmatalis* nucleopolyhedrovirus (AgMNPV) improves its virulence towards its insect host. **Biological Control**, v. 27, p. 336-344, 2003.
- POPHAM, H. J. R.; BISCHOFF, D. S.; SLAVICEK, J. M. Both *Lymantria dispar* nucleopolyhedrovirus enhancin genes contribute to viral potency. **Journal of Virology**, v. 75, p. 8639-8648, 2001.
- REDMAN, E. M.; WILSON, K.; CORY, J. S. Trade-offs and mixed infections in an obligate-killing insect pathogen. **Journal of Animal Ecology**, v. 85, n. 5, p. 1200-1209, 2016.
- RIBEIRO, B. M.; CROOK, N. E. Expression of full-length and truncated forms of crystal protein genes from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* in a baculovirus and pathogenicity of the recombinant viruses. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 62, p. 121-130, 1993.
- RIBEIRO, B. M.; CROOK, N. E. Construction of occluded recombinant baculoviruses containing the full-length *cry1Ab* and *cry1Ac* genes from *Bacillus thuringiensis*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 31, p. 763-769, 1998.
- RODRIGUES, D. T.; PETERSON, L.; OLIVEIRA, L. B. de; SOSA-GÓMEZ, D. R.; RIBEIRO, B. M.; ARDISON-ARAÚJO, D. M. P. Characterization of a novel alphabaculovirus isolated from the Southern armyworm, *Spodoptera eridania* (Cramer, 1782) (Lepidoptera: Noctuidae) and the evolution of odv-e66, a bacterium-acquired baculoviral chondroitinase gene. **Genomics**, v. 112, n. 6, p. 3903-3914, 2020.
- RODRÍGUEZ, V. A.; BELAICH, M. N.; QUINTANA, G.; SCIOCCO-CAP, A.; GHIRINGHELLI, P. D. Isolation and characterization of a nucleopolyhedrovirus from *Rachiplusia nu* (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae). **International Journal of Virology and Molecular Biology**, v. 1, p. 28-34, 2012.
- ROHRMANN, G. F. The AcMNPV genome: Gene content, conservation, and function. In: ROHRMANN, G. F. (Ed.). **Baculovirus Molecular Biology** [internet]. 4th ed. Bethesda: National Center for Biotechnology Information, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK543457>. Acesso em: 19 jan. 2022.
- ROWLEY, D. L.; POPHAM, H. J. R.; HARRISON, R. L. Genetic variation and virulence of nucleopolyhedroviruses isolated worldwide from the Heliothine pests *Helicoverpa armigera*, *Helicoverpa zea*, and *Heliothis virescens*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 107, n. 2, p. 112-126, 2011.
- SANTIAGO-ALVAREZ, C.; CABALLERO, P. Susceptibility of parasitized *Agrotis segetum* larvae to a granulosis virus. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 56, p. 128-131, 1990.
- SANTOS, E. R.; OLIVEIRA, L. B.; PETERSON, L.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; RIBEIRO, B. M.; ARDISON-ARAÚJO, D. M. P. The complete genome sequence of the first hesperiid-infecting alphabaculovirus isolated from the leguminous pest *Urbanus proteus* (Lepidoptera: Hesperidae). **Virus Research**, v. 249, p. 76-84, 2018.
- SANTOS, E. R. dos; TRENTIN, L. B.; ECKER, A.; SILVA, L. A.; BORGES, M.; MOWERY, J. D.; RIBEIRO, B. M.; HARRISON, R. L.; ARDISON-ARAÚJO, D. M. P. An influenza virus found in stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae) of four different species. **Virology**, v. 534, p. 72-79, 2019.
- SCHMITT, A.T. **Eficiência da aplicação de Baculovirus erinnyis no controle do mandaróvã da mandioca**. Florianópolis: Empasc, 1985. 7 p. (Empasc. Comunicado Técnico, 88).
- SCIOCCO-CAP, A.; PAROLA, A. D.; GOLDBERG, A. V.; GHIRINGHELLI, P. D.; ROMANOWSKI, V. Characterization of a granulovirus isolated from *Epinotia aporema* Wals. (Lepidoptera: Tortricidae) larvae. **Applied Environmental Microbiology**, v. 67, n. 8, p. 3702-3706, 2001.
- SHAPIRO, M. Use of optical brighteners as radiation protectants for Gypsy Moth (Lepidoptera, Lymantriidae) nuclear polyhedrosis virus. **Journal of Economic Entomology**, v. 85, n. 5, p. 1682-1686, 1992.
- SHAPIRO, M.; FARRAR, R. R. Fluorescent brighteners affect feeding rates of the corn earworm (Lepidoptera: Noctuidae) and act as enhancers and sunlight protectants for its nucleopolyhedrovirus. **Journal of Entomological Science**, v. 38, n. 2, p. 286-299, 2003.
- SIMÓN, O.; WILLIAMS, T.; LÓPEZ-FERBER, M.; CABALLERO, P. Functional importance of deletion mutant genotypes in an insect nucleopolyhedrovirus population. **Applied of Environmental Microbiology**, v. 71, p. 4254-4262, 2005.
- SIMÓN, O.; PALMA, L.; BEPERET, I.; MUÑOZ, D.; LÓPEZ-FERBER, M.; CABALLERO, P.; WILLIAMS, T. Sequence comparison between three geographically distinct *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus isolates: Detecting positively selected genes. **Journal Invertebrate Pathology**, v. 107, p. 33-42, 2011.
- SIMÓN, O.; WILLIAMS, T.; LÓPEZ-FERBER, M.; CABALLERO, P. Deletion of *egt* is responsible for the fast-killing phenotype of natural deletion genotypes in a *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus population. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 111, n. 3, p. 260-263, 2012.
- SLACK, J. M.; FAULKNER, P. Characterization of v-cath, a cathepsin L-like proteinase expressed by the baculovirus *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus. **Journal of General Virology**, v. 76, p. 1091-1098, 1995.

- SLAVICEK, J. M.; POPHAM, H. J. R.; RIEGEL, C. I. Deletion of the *Lymantria dispar* multicapsid nucleopolyhedrovirus ecdysteroid UDP-glucosyl transferase gene enhances viral killing speed in the last instar of the gypsy moth. **Biological Control**, v. 16, p. 91-103, 1999.
- SOSA-GÓMEZ, D. R. Implications of plant hosts and insect nutrition on entomopathogenic diseases. In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. (Ed.). **Insect bioecology and nutrition for integrated pest management**. Boca Raton: CRC Press; Brasília, DF: Embrapa, 2012. p. 195-209.
- SOSA-GÓMEZ, D. R. Microbial control of soybean pest insects and mites. In: LACEY, L. A. (Ed.) **Microbial control of insect and mite pests: from theory to practice**. Amsterdam: Elsevier, 2017. p. 199-208.
- SOSA-GÓMEZ, D. R.; MORGADO, F. S.; CORRÊA, R. F. T.; SILVA, L. A.; ARDISSON-ARAÚJO, D. M. P.; RODRIGUES, B. M. P.; OLIVEIRA, E. E.; AGUIAR, R. W. S.; RIBEIRO, B. M. Entomopathogenic viruses in the Neotropics: Current status and recently discovered species. **Neotropical Entomology**, v. 49, p. 315-331, 2020.
- SOSA-GÓMEZ, D. R.; MOSCARDI, F. Producción de virus patógenos de ácaros e insectos. In: LECUONA, R. E. (Ed.). **Microrganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plagas**. Buenos Aires: Talleres Graficos Mariano Mas., 1996. p. 223-236.
- STEWART, L. M. D.; HIRST, M.; FERBER, M. L.; MERRYWEATHER, A. T.; CAYLEY, P. J.; POSSEE, R. D. Construction of an improved baculovirus insecticide containing an insect-specific toxin gene. **Nature**, v. 352, p. 85-88, 1991.
- SUN, X.; WANG, H.; SUN, X.; CHEN, X.; PENG, C.; PAN, D.; JEHLE, J. A.; VAN DER WERF, W.; VLAK, J. M.; HU, Z. Biological activity and field efficacy of a genetically modified *Helicoverpa armigera* single-nucleocapsid nucleopolyhedrovirus expressing an insect-selective toxin from a chimeric promoter. **Biological Control**, v. 29, n. 1, p. 124-137, 2004.
- SUN, X.; WU, D.; SUN, X.; JIN, L.; MA, I.; BONNING, B. C.; PENG, H.; HU, Z. Impact of *Helicoverpa armigera* nucleopolyhedroviruses expressing a cathepsin L-like protease on target and nontarget insect species on cotton. **Biological Control**, v. 49, p. 77-83, 2009.
- TAMEZ-GUERRA, P.; MCGUIRE, M. R.; BEHLE, R. W.; HAMM, J. J.; SUMNER, H. R.; SHASHA, B. S. Sunlight persistence and rainfastness of spray-dried formulations of baculovirus isolated from *Anagrapha falcifera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 93, n. 2, p. 210-218, 2000.
- TAPIA, M. S.; ALZAMORA, S. M.; CHIRIFE, J. Effects of water activity (aw) on microbial stability: as a hurdle in food preservation. In: BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; FONTANA JR. A. J.; SCHMIDT, S. J.; LABUZA, T. P. (Eds.). **Water Activity in Foods: Fundamentals and Applications**. [S. l.]: Wiley Blackwell, 2007. p. 239-271.
- TOMALSKI, M. D.; MILLER, L. K. Expression of a paralytic neurotoxin gene to improve insect baculoviruses as biopesticides. **BioTechnology**, v. 10, p. 545-549, 1992.
- TRENTIN, B.; SANTOS, E. R.; OLIVEIRA JR., A. G.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; RIBEIRO, B. M.; ARDISSON-ARAÚJO, D. M. P. The complete genome of *Rachiplusia nu* nucleopolyhedrovirus (RanuNPV) and the identification of a baculoviral CPD-photolyase homolog. **Virology**, v. 534, p. 64-71, Aug. 2019.
- TSAI, C. H.; WEI, S. C.; LO, H. R.; CHAO, Y. C. Baculovirus as versatile vectors for protein display and biotechnological applications. **Current Issues in Molecular Biology**, v. 34, n. 1, p. 231-256, 2019.
- VALICENTE, F. H.; TUELHER, E. S.; PAIVA, C. E. C.; GUIMARÃES, M. R. F.; MACEDO, C. V.; WOLFF, J. L. C. A new baculovirus isolate that does not cause the liquefaction of the integument in *Spodoptera frugiperda* dead larvae. **Brazilian Journal of Maize and Sorghum**, v. 7, p. 77-82, 2008.
- VASCONCELOS, S. D.; WILLIAMS, T.; HAILS, R. S.; Cory J. Prey selection and baculovirus dissemination by carabid predators of Lepidoptera. **Ecological Entomology**, v. 21, p. 98-104, 1996.
- VIEIRA, C. M.; TUELHER, E. S.; VALICENTE, F. H.; WOLFF, J. L. C. Characterization of a *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus isolate that does not liquefy the integument of infected larvae. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 111, p. 189-192, 2012.
- VOLKMAN, L. E.; KEDDIE, B. A. Nuclear polyhedrosis virus pathogenesis. **Seminars in Virology**, v. 1, p. 249-256, 1990.
- WEI, L.; PÉREZ-RODRIGUEZ, M. Á.; TAMEZ-GUERRA, P.; LUNA-SANTILLANA, E. J.; ROAS-GARCÍA, N. M.; VILLEGAS-MENDOZA, J. M.; RODRÍGUEZ-PÉREZ, M. A. Improved insecticidal activity of a genetically modified baculovirus expressing the immunosuppressive CrV1 protein from a polydnavirus against *Spodoptera exigua*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 26, n. 1, p. 1-11, 2016.
- WILLIAMS, T.; CISNEROS, J. Formulación y aplicación de los baculovirus bioinsecticidas. In: CABALLERO, P.; LÓPEZ FERBER, M.; WILLIAMS, T. (Eds.). **Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas**. Pamplona, Phytoma, 2001. P. 313-372.
- WILLIAMSON, C.; VON WECHMAR, M. B. Two novel viruses associated with severe disease symptoms of the green stinkbug *Nezara viridula*. **Journal of General Virology**, v. 73, p. 2467-2471, 1992.
- WILLIAMSON, C.; VON WECHMAR, M. B. The effect of two viruses on the metamorphosis, fecundity, and longevity of the green stinkbug, *Nezara viridula*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 65, p. 174-178, 1995.

WILSON, K.; GRZYWACZ, D.; CURCIC, I.; SCOATES, F.; HARPER, K.; RICE, A.; PAUL, N.; DILLON, A. A novel formulation technology for baculoviruses protects biopesticide from degradation by ultraviolet radiation. *Scientific Reports*, v. 10, 13301, 2020.

WOLFF, J. L. C.; VALICENTE, F. H.; MARTINS, R.; OLIVEIRA, J. V. D. C.; ZANOTTO, P. M. A. Analysis of the genome of *Spodoptera frugiperda* nucleopolyhedrovirus (SfMNPV-19) and of the high genomic heterogeneity in group II nucleopolyhedroviruses. *Journal of General Virology*, v. 89, p. 1202-1211, 2008.

YAMANAKA, N.; REWITZ, K. F.; O'CONNOR, M. B. Ecdysone control of developmental transitions: lessons from *Drosophila* research. *Annual Review of Entomology*, v. 58, n. 1, p. 497-516, 2013.

ZOU, Y.; YOUNG, S. Use of a Fluorescent brightener to improve *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) nuclear polyhedrosis virus activity in the laboratory and field. *Journal of Economic Entomology*, v. 89, n. 1, p. 92-96, 1996.

Manejo de pragas com fungos entomopatogênicos

Michele Potrich

Pedro Manuel Oliveira Janeiro Neves

Everton Ricardi Lozano

Rodrigo Mendes Antunes Maciel

Fernanda Caroline Colombo

Raiza Abati

Introdução

Os estudos com fungos entomopatogênicos no Brasil vêm sendo realizados, aproximadamente, desde 1920, quando duas espécies de cigarrinhas foram identificadas contaminadas por *Penicillium anisopliae*, conhecido atualmente por *Metarhizium anisopliae*. Por meio desses estudos, foi realizada a primeira aplicação de *M. anisopliae* para o controle da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar *Maharva fimbriolata* (syn. *Tomaspis liturata*), porém, sem sucesso.

Nos anos posteriores, outros estudos com *M. anisopliae* foram realizados, também para o controle de cigarrinhas da cana-de-açúcar e das pastagens e, a partir de 1955, pesquisadores brasileiros passaram a avaliar o uso de fungos entomopatogênicos para o controle de insetos-praga em diversas culturas, bem como o aprimoramento da produção massal dos agentes de controle em laboratório. A partir daí a utilização de fungos entomopatogênicos (FE) para o controle de insetos-praga alavancou, com vários casos de sucesso no Brasil.

Os FEs são responsáveis por um controle biológico "silencioso" ou "pouco visível", pois são microrganismos e, muitas vezes, os sintomas de seu ataque nas pragas são pouco perceptíveis. O principal sintoma esperado é a morte do inseto, entretanto, por se tratar de um agente biológico, durante o processo de ação do FE até a morte do inseto, sintomas como redução na alimentação e oviposição são observados.

O uso de FE no controle de pragas, principalmente, em programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP), deve ser encarado como mais uma ferramenta a ser utilizada e preservada, a fim de diminuir a população das pragas a níveis economicamente viáveis, em conjunto com outras ferramentas de controle. Este agente de controle ainda pode ser uma poderosa ferramenta para manejar populações de insetos resistentes ao controle químico sintético, melhorando a eficiência de produtos já disponíveis.

Em 2012 havia cerca de 230 inimigos naturais utilizados como agentes de controle biológico em todo o mundo (Van Lenteren, 2012) ultrapassando 350 em 2016 (Van Lenteren et al., 2018).

Com relação aos agentes de controle microbiano (vírus, fungos, bactérias, nematoides, entre outros), há cerca de 209 isolados de 94 espécies comercialmente disponíveis para a utilização no controle de pragas (Van Lenteren et al., 2018), com enfoque aqui, aos FE.

Fungos entomopatogênicos e modo de ação

Os FE têm a capacidade de causar doenças e ou a morte de insetos ou artrópodes. Estes fungos ocorrem naturalmente no ambiente podendo, ocasionalmente, causar mortalidade generalizada de insetos-praga e são utilizados também como insumos biológicos, desempenhando um papel importante na regulação de populações de insetos de interesse econômico. A relação entre os FE e os insetos, do ponto de vista antropocêntrico, pode ser compreendido como benéfico (regulação de pragas) ou prejudicial (quando afeta insetos não-alvo, como abelhas, bicho-da-seda e inimigos naturais invertebrados - parasitoides e predadores).

No que se refere à relação entre os FE e outros agentes de controle biológico, como parasitoides e predadores, esta pode resultar em ação conjunta (sinérgica) ou ação sem interferência de um sobre o outro (aditiva). Raramente pode ocorrer a ação em que um prejudica o desempenho do outro (antagônica), mesmo quando isso ocorre, é algo inferior, se comparados aos efeitos causados por inseticidas sintéticos (Battisti et al., 2020; Potrich et al., 2009; 2015; 2017; 2020). Isto porque ambos, FE e inimigos naturais, desempenham papel semelhante na regulação populacional dos artrópodes praga.

Os FE ganham destaque devido seu amplo espectro de ação, sendo que estes podem infectar insetos em seus diferentes estágios de desenvolvimento. Além disso, sua dispersão natural possibilita a transmissão e a redução natural da praga, podendo afetar gerações futuras (Alves, 1998; Thomas; Read, 2007).

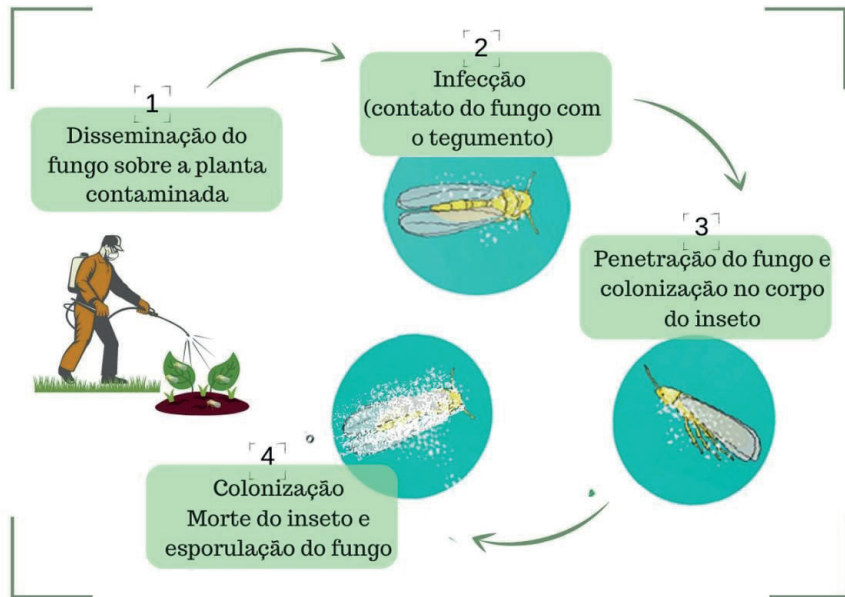
O sucesso da utilização dos FE como agentes de controle biológico também está relacionado ao mecanismo de ação destes. Diferentemente de outros patógenos, como vírus e bactérias, que precisam ser ingeridos pelos insetos para que ocorra o processo de infecção, os FE infectam o inseto através do contato, penetrando-os por meio da cutícula, envolvendo processo físico (pressão) e químico (degradação enzimática da cutícula).

O processo de infecção dos fungos no hospedeiro passa por diferentes fases. O processo é iniciado com a adesão da unidade infecciosa (conídio) no tegumento do inseto. Em condições adequadas de temperatura e umidade do ambiente, bem como características específicas do corpo hospedeiro, ocorre a germinação do conídio e a penetração das hifas no corpo do inseto. As condições ambientais para que os FE possam infectar seus hospedeiros está condicionada, sobretudo, a elevada umidade relativa, temperaturas amenas e a proteção contra a radiação ultravioleta (Alves, 1998). Micro-habitats específicos nos cultivos, nos diferentes sistemas de produção e microambientes no corpo dos insetos (orifícios, regiões do tegumento, entre outros), que propiciem essas condições, podem otimizar a eficiência do patógeno.

A penetração da hifa no corpo do inseto ocorre por meio de processo mecânico de pressão e pela ação de enzimas específicas, produzidas pelo fungo, que digerem a cutícula. Assim, as células fúngicas passam a absorver os nutrientes dos insetos, destroem as células hospedeiras, produzem toxinas e o fungo se multiplica no interior do inseto, iniciando a colonização (Wang; Wang, 2017).

Ao atingir a hemolinfa do inseto, rica em nutrientes, as hifas crescem e formam uma estrutura que

toma conta de todo o corpo do inseto (colonização). Durante o processo de colonização, o fungo produz e libera metabólitos, que atuam inibindo o desenvolvimento de outros microrganismos e favorecendo o seu crescimento, além de agirem como toxinas contra o hospedeiro. O micélio do fungo domina todo o corpo do inseto, causando a sua morte e, posteriormente, extravasando para o ambiente, principalmente, por meio de aberturas naturais (espiráculos, boca, ânus) do corpo do inseto e regiões intersegmentares, quando então o fungo produz novos conídios que são dispersados pelo ambiente iniciando um novo ciclo de infecção (Alves, 1998; Qu; Wang, 2018; Ruiiu, 2018) (Figura 1).



Ação do fungo *Beauveria bassiana* sobre inseto.

Figura 1. Representação esquemática do ciclo de infecção do fungo *Beauveria bassiana*.

Fonte: Di Domenico (2019).

Segundo Roy et al. (2010), os FE são encontrados no solo, na água, em plantas e em insetos, em estrutura micelial saprofítica ou como conídios, até que encontre condições ambientais adequadas e um hospedeiro compatível para que ocorra o processo de infecção. Segundo Zimmermann (2007), também já foram isolados da superfície e de tecidos internos de plantas e até mesmo do ar. Tais fungos têm sido estudados há muitas décadas e utilizados em diferentes sistemas de produção, para o controle de diversas espécies de insetos-praga escavadores, sugadores, raspadores e mastigadores de raízes, folhas e frutos, bem como ácaros (Dara, 2018).

Dentre os fungos que são inimigos naturais de insetos-praga recorrentes na cultura da soja, destacam-se os pertencentes aos gêneros *Beauveria*, *Metarhizium* e *Isaria* (syn. *Cordyceps*).

Beauveria bassiana

Beauveria bassiana (Cordycipitaceae) foi descrito há mais de 180 anos, na França, como patógeno causador da muscardine no bicho-da-seda *Bombyx mori*, sendo a espécie mais comum e cosmopolita, causadora de doenças em artrópodes (Figura 2), tendo mais de 700 espécies hospedeiras (Bustamante et al., 2019; Faria; Wraight, 2007; Imoulan et al., 2017; Vega et al., 2009). Juntamente com outras espécies de *Beauveria*, são multiplicados e formulados como micoinseticidas e utilizados para o controle de insetos-praga e ácaros em várias partes do mundo, pois além de uma gama de hospedeiros, podem ser facilmente produzidos em larga escala (Imoulan et al., 2017).



Foto: Renan Quisimi

Figura 2. Ninfa de percevejo-marrom *Euschistus heros* infectado por *Beauveria bassiana*. Aumento 2x.

Durante o processo de colonização o fungo produz e libera vários metabólitos secundários como: beauvericina, bassianina, bassianolida, beauverolida, beauveriolida, tenelina, ácido oxálico e bassiacridina (Zimmermann, 2007), que desempenham diversas funções, dentre as quais a inibição do desenvolvimento de outros microrganismos e favorece o seu crescimento, além de agirem como toxinas contra o hospedeiro.

Com esse potencial, *B. bassiana* tem sido recomendado para o controle de vários insetos-praga, dentre os quais estão: o pulgão *Aphis gossypi*, a mosca-branca *Bemisia tabaci*, o moleque-da-bananeira *Cosmopolites sordidus*, a cigarrinha-do-milho *Dalbulus maidis*, a cigarrinha-das-pastagens *Deois flavopicta*, a vaquinha ou brasileiro *Diabrotica speciosa*, a mosca-minadora-dos-citrus *Diaphorina citri*, o percevejo-marrom-da-soja *Euschistus heros*, o tripses *Frankliniella occidentalis*, o gorgulho-do-eucalipto *Gonipteros scutellatus*, a broca-da-erva-mate *Hedypathes betulinus*, a broca-do-café *Hypothenemus hampei*, o bicudo da cana-de-açúcar *Sphenophorus levis* e o tripses *Thrips tabaci*. Além desses insetos, *B. bassiana* também é recomendado para o controle do ácaro rajado, *Tetranychus urticae* (Mapa, 2022; Mascarin et al., 2019).

Metarhizium spp.

O gênero *Metarhizium* (Clavicipitacea) engloba várias espécies de fungos, porém *Metarhizium anisopliae* e *Metarhizium rileyi* (syn. *Nomuraea rileyi*) merecem destaque, devido a eficiência no controle de insetos-praga da soja. *Metarhizium anisopliae* é conhecido por causar a “doença-verde” nos insetos (Figura 3) e apresenta patogenicidade para mais de 204 espécies de insetos pertencentes as ordens Orthoptera, Dermaptera, Hemiptera, Lepidoptera, Diptera, Hymenoptera e Coleoptera além de ácaros e carrapatos (Destéfano et al., 2004; Parra, 2014; Van Lenteren et al., 2018).

O FE *M. anisopliae* tem sido recomendado para o controle de inúmeros insetos-praga em diversas culturas, dentre estes estão: a cigarrinha-da-raíz *Mahanarva fimbriolata*, cigarrinhas-das-pastagens *Deois flavopicta* e *Zulia entreriana*, broca-do-café *Hypothenemus hampei*, mosca-branca *B. tabaci* Biótipo B, lagarta-das-folhas *Spodoptera eridania*, lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda*, lagarta falsa-medideira *Chrysodeixis includens*, percevejo-castanho *Scaptocoris castanea*, tripes *F. schultzei* e percevejo-marrom *E. heros*. Ainda vale ressaltar que *M. anisopliae* combinado com *B. bassiana* originaram novos produtos (Mascarin et al., 2019; Mapa, 2022) com enfoque principal em controlar o percevejo-marrom, que é uma praga chave na cultura da soja. Além de controlar insetos, *M. anisopliae* também é recomendado para o manejo do ácaro rajado *Tetranychus urticae*.



Foto: Rodrigo Mendes Antunes Maciel

Figura 3. Percevejo-marrom *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) infectado por *Metarhizium anisopliae*.

Já *M. rileyi* é comum causando epizootias e controlando a população de lagartas de várias espécies de lepidópteros em soja (Sosa-Gómez et al., 2017; Vega-Aquino et al., 2010; Visalakshi et al., 2020) e é um exemplo de controle biológico natural. Nas safras de 2019/20 e 2020/21 houve a ocorrência natural

de *M. rileyi* em lagartas, no município de Bela Vista do Paraíso, Paraná, Brasil, causando epizootia em lavouras de soja, (Figura 4). Esse fenômeno ocorre quando as condições climáticas como temperatura e principalmente umidade são apropriadas para o desenvolvimento do fungo, podendo controlar de 95 a 100% dos indivíduos. Porém, devido à dificuldade de multiplicação do fungo em laboratório e na sua formulação para manutenção da viabilidade até ser aplicado a campo, não se tem produtos comerciais à base de *M. rileyi* registrados, não sendo utilizados de forma inundativa em programas de controle biológico aumentativo.



Figura 4. Lagarta contaminada com o fungo entomopatogênico *Metarhizium rileyi* na cultura da soja na safra de 2019/20 (A e B) e na safra 2020/21 (C), em Bela Vista do Paraíso, Paraná, Brasil.

Isaria fumosorosea (syn. *Cordyceps fumosorosea*)

Isaria fumosorosea (syn. *Cordyceps fumosorosea*) (Cordycipitaceae) foi isolado primeiro de uma única larva do gorgulho da beterraba *Cleonus punctiventris* (Wize 1904) na Ucrânia, e é um fungo de crescimento rápido que produz as primeiras colônias brancas que mudam para púrpura ou tons de rosa (Figura 5) (Alves, 1998; Zimmermann, 2008). A espécie *I. fumosorosea* tem distribuição mundial, sendo um agente de controle que está em plena expansão no controle biológico. Entretanto, por muitos anos não teve o destaque merecido, com os trabalhos e publicações, praticamente restritos a *M. anisopliae* e *B. bassiana* (Mascarin et al., 2019; Zimmermann, 2008).



Foto: Adair V. Carneiro.

Figura 5. Percevejos-marrom *Euschistus heros* (Hemiptera-Pentatomidae) infectados por *Isaria fumosorosea*.

Por mais de 100 anos *Cordyceps* foi classificado como *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith e, mais recentemente, reclassificado para *Isaria fumosorosea*. Este FE tem ganhado destaque devido ao seu uso no controle de moscas-brancas, entretanto, há relatos e estudos do efeito deste sobre Lepidoptera, Coleoptera, Hemiptera e Orthoptera (Alves; Lopes, 2008; Alves, 1998; Hodge et al., 2005; Luangsa-Ard et al., 2005).

Dentre os principais insetos, para os quais *I. fumosorosea* e suas formulações comerciais são recomendadas, destacam-se a mosca-branca *B. tabaci*, o psílideo cítrico asiático *Diaphorina citri*, a lagarta *Helicoverpa armigera* e a cigarrinha-do-miho *D. maidis* (Mapa, 2022). Assim como os outros FE, *I.*

fumosorosea também tem o potencial de produzir toxinas, como a proteína IF8 e beauvericina, as quais, dentre outras, auxiliam no processo de infecção fungo-hospedeiro (Keppanan et al., 2019; Wu et al., 2021).

As atualizações sobre produtos registrados para essas três espécies de fungos, bem como o titular de registro, indicações de uso (cultura e praga) e doses recomendadas, podem ser obtidas continuamente e de modo atualizado no site do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa), no Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários - AGROFIT (Mapa, 2022).

Fungos com potencial de utilização no controle de pragas da soja

Além dos gêneros comercialmente disponíveis como por exemplo *Beauveria* spp. *Metarhizium* spp. e *Isaria* sp., para o controle de pragas da soja no Brasil, outros FE e fungos patogênicos a ácaros têm potencial para o controle e para a utilização em larga escala. Muitas espécies de fungos ocorrem naturalmente promovendo infecções de forma epizootica (causando elevada e rápida mortalidade das populações de determinadas pragas) ou endozootica (causando mortalidade lenta, mas duradoura) sendo que estas espécies, também importantes, devem ser consideradas. Além de *M. rileyi*, comum causando epizootias, como já mencionado, também os fungos *Pandora gammae*, *Zoophtora radicans* e *Isaria tenuipes* são relatados como causadores de elevada mortalidade em populações de lagartas que se alimentam na soja, como *C. includens*, *Chrysodeixis acuta*, *Anticarsia gemmatalis*, *Rachiplusia nu*, *S. frugiperda*, *Spodoptera litura*, *Crociosema aporema*, entre outras espécies (Sosa-Gómez, 2017).

Além destas espécies já citadas outras, provavelmente, ocorrem na cultura da soja fazendo o controle de vários insetos e ácaros. Especificamente para os ácaros existem várias citações de seu controle por fungos *Neozygites floridana* (Arthurs; Bruck, 2017; Roggia et al., 2009). Espécies do gênero *Lecanicillium* e *Isaria* são também citadas controlando populações de ácaros fitófagos como Tetraniquídeos além de tripses e moscas-brancas. Os fungos *Cladosporium cladosporioides*, *Cephalosporium diversiphialidum*, *Lecanicillium (Verticillium) lecani* são citados como causadores de epizootias em ácaros em lavouras de cafeeiro e provavelmente devam ocorrer em lavouras de soja. O grupo dos Entomophthorales, principalmente da família Entomophthoraceae (*Neozygites* spp., *Pandora* spp., *Zoophtora* spp., *Erynia* spp., *Batkoo* spp., *Entomophaga* spp., *Entomophthora* spp., entre outros) têm elevada capacidade de causar epizootias quando as condições climáticas ou microclimáticas são adequadas, tornando-os potenciais candidatos de sucesso para utilização no controle microbiano de pragas (Kidanu; Hagos, 2020; Shapiro-Ilan et al., 2012).

Além desta característica, muitas destas espécies podem produzir estruturas de resistência que lhes confere maior capacidade de permanecer viáveis na lavoura (Vega et al., 2009). Assim, poderão ser desenvolvidos novos produtos à base de FEs para serem utilizados na cultura da soja. Também, o produtor e os técnicos devem ficar atentos a possíveis epizootias provocadas por estes entomopatógenos e procurar sempre promover práticas para a sua conservação e incremento.

Estratégias de utilização dos fungos entomopatogênicos no controle das pragas da soja

Especificamente no controle de ácaros e insetos a utilização de FEs no MIP pode ser feita de forma inundativa, por meio da aplicação do patógeno em toda área, ou de forma inoculativa, aplicando em alguns locais visando o seu estabelecimento e aumento ou ainda de forma conservativa ou por incremento,

que é a manutenção dos FE que ocorrem naturalmente ou foram aplicados na lavoura.

O uso de forma inundativa baseia-se na aplicação de grandes quantidades do agente de controle (FE) de forma a manter a população em baixos níveis e assim não provocar dano econômico. Já na aplicação inoculativa, o agente de controle biológico é introduzido na área para que ali se estabeleça e seja realizado o controle, geralmente, de forma permanente sem a necessidade de aplicações complementares em toda a área da cultura. Já o controle biológico conservativo, como o próprio nome diz, baseia-se na conservação dos FE através de medidas que aumentem a vida das estruturas infectivas, geralmente conídios e esporos. As formas de conservação estão relacionadas com a manipulação do ambiente, visando principalmente preservar a fase mais crítica e exposta do patógeno.

A manipulação do ambiente pode favorecer a conservação contribuindo para a prevalência/permanência do agente de controle no agroecossistema. A fase mais crítica à sobrevivência dos fungos é quando os propágulos infectivos, esporos e conídios, ficam expostos a agentes deletérios.

Para promover a conservação dos fungos e criar condições favoráveis para a ocorrência de epizootias, há a necessidade de se conhecer a ação dos diversos fatores bióticos e abióticos sobre o patógeno e sobre o processo de desenvolvimento da doença. Entre os fatores bióticos mais relevantes estão os diferentes estágios de desenvolvimento do entomopatógeno, a fenologia da cultura, a biologia e comportamento do inseto praga e a ação de outros microrganismos. Já entre os fatores abióticos, os mais deletérios para os FEs, são considerados de extrema importância a temperatura, a umidade relativa, a radiação ultravioleta e o contato com os produtos fitossanitários aplicados na lavoura. Além destes, todas as práticas culturais utilizadas e os demais componentes do sistema agrícola podem afetar, de forma direta ou indireta, a eficiência e permanência do patógeno.

As temperaturas elevadas associadas à radiação UV contribuem para falhas na eficiência do controle biológico com fungos (Rangel et al., 2005). Também ocorrência de epizootias está, de maneira geral, relacionada com altas umidades relativas (70% a 100%) (Alves; Lecuona, 1998).

Dentre os manejos agrícolas que são prejudiciais aos FEs está o sistema convencional de plantio. Assim, para minimizar estes efeitos, o sistema de plantio direto, atualmente utilizado em praticamente todo o plantio de soja, favorece a conservação dos FE.

O Manejo Fitossanitário das Lavouras que abrange todas as aplicações de produtos químicos, sintéticos ou não, que visem o controle de insetos, ácaros, nematoides, doenças e plantas daninhas e seu uso correto e sem excessos é um dos fatores mais importantes na conservação dos FE como de outros agentes de controle biológico como parasitoides e predadores. Estes produtos podem causar a mortalidade/desativação/viabilidade dos propágulos infectivos dos fungos, e assim diminuir a eficiência de controle, tanto para os patógenos que foram aplicados, de forma inundativa, ou para aqueles que ocorrem naturalmente ou foram aplicados de forma inoculativa, na lavoura. Esse efeito deletério é mais pronunciado na utilização de fungicidas em especial para o controle da ferrugem da soja (Quintela et al., 2007).

Os fungicidas normalmente inibem a germinação dos conídios/esporos dos fungos, diminuindo o potencial de inóculo. Diversos trabalhos avaliam, há mais de 50 anos, a ação de agrotóxicos e produtos alternativos em relação às várias espécies de fungos entomopatogênicos (Batista Filho et al., 2001; Ignoffo et al., 1975; Neves et al., 2001; Potrich et al., 2018) com o objetivo de selecionar produtos

que causem um menor dano ao entomopatógeno e que também sejam mais seletivos a organismos não-alvos.

A seletividade, ocorre quando os produtos não são prejudiciais aos FEs, também conhecida como compatibilidade ou seletividade fisiológica, podendo ocorrer as seletividades espacial e temporal. A primeira ocorre quando o produto não entra em contato com o entomopatógeno, como por exemplo, na utilização de produtos granulados, ou aplicados por regas localizadas, em talhões específicos ou reboleiras. Já a seletividade temporal ocorre quando as aplicações dos produtos ocorrem em épocas/períodos diferentes das aplicações, principalmente as inundativas, dos FE. Os FEs presentes no agroecossistema, de ocorrência natural ou de aplicações anteriores, estão expostos à ação dos produtos, devendo-se sempre priorizar a utilização de produtos que apresentem a seletividade fisiológica. Inseticidas químico sintéticos ou inseticidas naturais, que são seletivos aos FEs, podem ser utilizados em associação com estes patógenos podendo aumentar a eficiência de controle com menor impacto ambiental, devido a redução da dose dos inseticidas sintéticos utilizados.

A eficiência dos fungos não deve ser medida apenas em função do nível de controle, mas também em função da manutenção do equilíbrio ecológico que ele proporcionará ao longo do tempo e do menor impacto ambiental que eles causam, quando comparados aos inseticidas químicos sintéticos.

Os principais estudos com fungos entomopatogênicos e tendências da área

Análises cienciométricas são importantes ferramentas para resumir e revelar as tendências de uma área de pesquisa (He et al., 2019). Assim, o *status* da pesquisa sobre os principais gêneros de FEs sobre insetos-praga da cultura da soja ao longo dos anos está descrito na sequência e prediz a tendência dos estudos e, por consequência, dos possíveis produtos a serem lançados e utilizados.

A pesquisa foi realizada na base de dados da Web of Science (WoS) da Clarivate Analytics (<http://webofknowledge.com>), onde após a verificação, foram selecionadas 337 publicações que continham informações, diretas ou indiretas, sobre fungos entomopatogênicos, dos gêneros já descritos, na cultura da soja ou sobre insetos-praga desta cultura. Na figura 6 pode-se observar a distribuições das publicações entre os anos de 1973 a julho de 2021, com aumento significativo no número de publicações e citações a partir do ano de 2008.

Este resultado revela a tendência de estudos e da busca de estratégias de controle de artrópodes praga na cultura, mais sustentáveis aos agroecossistemas. Além disso, esse número de publicações pode estar associado ao crescimento de mercado e busca de novos produtos no setor de controle biológico nos últimos anos (Van Lenteren et al., 2018).

Hoje no Brasil, existem cerca de 54 produtos registrados e liberados formulados com *B. bassiana*, 47 produtos registrados e liberados formulados com apenas *M. anisopliae*, 10 produtos com a mistura de cepas de *B. bassiana* e *M. anisopliae* e cinco produtos formulados com *I. fumosorosea* (Mapa, 2022).

As principais instituições de pesquisas, relacionadas as publicações selecionadas podem ser verificadas na Figura 7, destacando-se a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), seguido pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA).

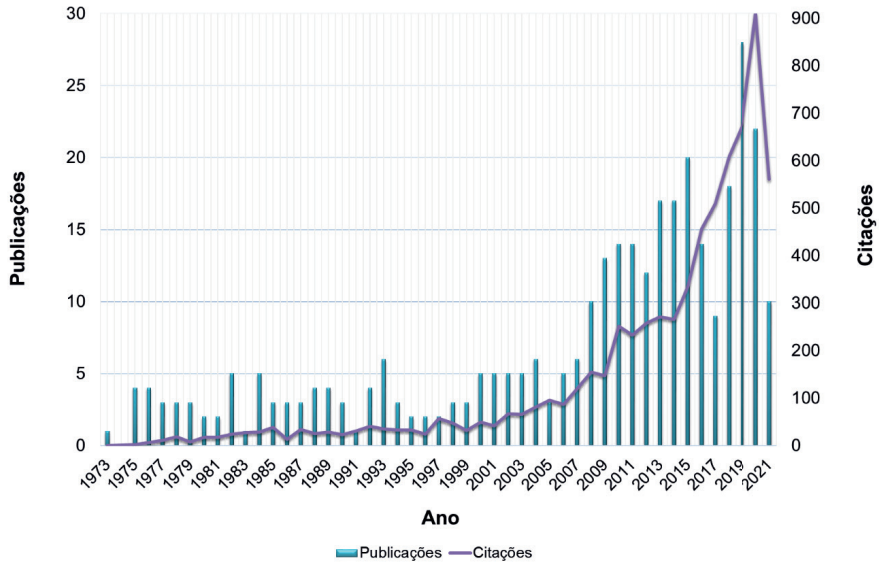


Figura 6. Distribuição do número de artigos publicados e citações sobre fungos entomopatogênicos e insetos praga da cultura da soja entre os anos de 1973-2021.



Figura 7. Principais instituições de pesquisa sobre fungos entomopatogênicos e insetos praga da cultura da soja.

Os resultados das principais instituições de pesquisa corroboram com os dados obtidos na distribuição de publicações entre os países, onde destacam-se com o maior número de publicações os Estados Unidos da América (94), seguido da China (63), Índia (57) e Brasil (55) (Figura 8).

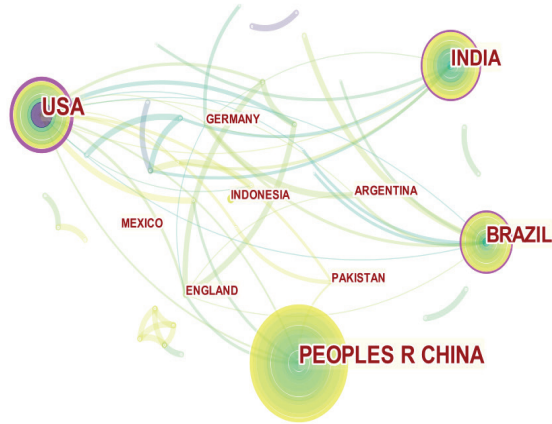
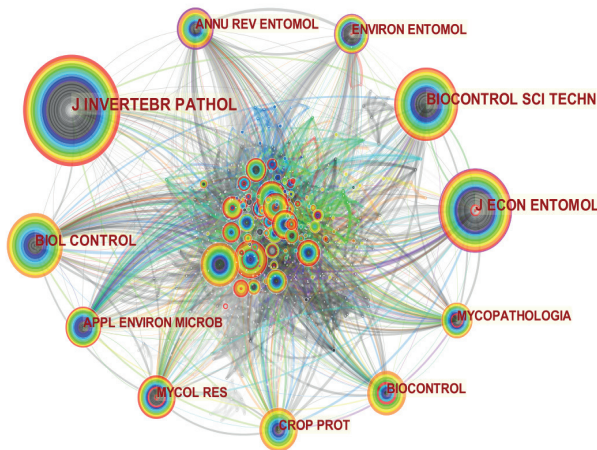


Figura 9. Frequência e centralidade de países em publicações sobre fungos entomopatogênicos e insetos praga da cultura da soja.



Fonte: Research and Markets, 2020.

Figura 10. Revistas científicas com maior número de publicações sobre fungos entomopatogênicos e insetos praga da cultura da soja.

O aumento no uso de bioinsumos no controle de insetos-praga e doenças, deve-se também ao apelo pela utilização de produtos que sejam menos agressivos ao ambiente, bem como causem menor impacto em relação aos seus resíduos. Além disso, devido a seleção de populações resistentes de insetos aos inseticidas químicos, surge a urgência na utilização de ferramentas de controle mais racionais, como os FEs.

Apesar de todos os benefícios encontrados para o uso dos FEs, ainda há um gargalo nas pesquisas sobre isolados que sejam mais adequados para determinadas regiões do país, em especial para o uso na cultura da soja. Essa necessidade de pesquisas em campo com diferentes isolados está aliada ao fato dos FE terem seu potencial de ação determinado por condições ideais de temperatura e umidade.

Considerações finais

A utilização de FE na cultura da soja ainda é restrita, porém há tendências de expansão da utilização dessas ferramentas de controle no Brasil e no mundo. Nos últimos anos, há um maior apelo pela produção de soja mais sustentável, a qual garante ao ambiente maior conservação e, dentre esses fatores, a redução dos inseticidas químicos sintéticos é uma das principais medidas a serem tomadas pelos produtores. Além disso, o mercado consumidor, principalmente o internacional, possui exigências ambientais mais rígidas, com isso, a utilização de ferramentas de controle que sejam mais sustentáveis é de grande valor.

Os FEs, por estarem presentes no ambiente, ajudam o produtor de forma gratuita a controlar os insetos-praga presentes nas culturas, fazendo com que os gastos com o controle biológico aplicado sejam reduzidos, devido a sua capacidade epizootica. Além disso, quando utilizados de forma inundativa, com a aplicação de produtos comerciais, os FEs são agentes de controle considerados mais sustentáveis em relação aos inseticidas químicos sintéticos, por serem mais seletivos à organismos benéficos, além de não causarem a contaminação de lençóis freáticos, do solo, da água, bem como do aplicador.

Por possuírem modo de ação por contato, os FEs podem controlar várias espécies de insetos-praga, além disso, nos próximos anos novos produtos devem ser lançados no mercado, a fim de abarcar mais culturas e controlar um maior número de pragas. Associa-se a isso, o fato de os FEs terem potencial também como fungos endofíticos e ainda poderem atuar como promotores de crescimento, o que viabiliza ainda mais a sua utilização em diferentes cultivos. Com isso, a utilização de FE para o controle de insetos-praga da soja é promissora, visto que são excelentes aliados do produtor e do meio ambiente, o que vem para agregar ao Manejo Integrado de Pragas.

Referências

- ALVES, S. B.; LOPES, R. B. **Controle Microbiano de Pragas na América Latina: Avanços e Desafios**. Piracicaba: FEALQ, 2008, 414 p.
- ALVES, S. B. **Controle Microbiano de Insetos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998, 1163 p.
- ALVES, S. B.; LECUONA, R. E. Epizootologia aplicada ao controle microbiano de insetos. In: ALVES, S. B. (Org.). **Controle Microbiano de Insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 97-170.
- ARTHURS, S. P.; BRUCK, D. J. Microbial control of nursery ornamental and landscape plant pests. In: LACEY, L. A. (Ed.). **Microbial control of insect and mite pests**. Yakima: Academic Press, 2017. p. 355-366. DOI: 10.1016/B978-0-12-803527-6.00024-X
- BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J. E. M.; LAMAS, C. Effect of thiamethoxam on entomopathogenic microorganisms. **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 3, p. 437-447, 2001. DOI: 10.1590/s1519-566x2001000300017
- BATTISTI, L.; WARMLING, J. V.; VIEIRA, C. F.; OLIVEIRA, D. H. R.; LIMA, Y. R. A.; POTRICH, M.; BUENO, A. F.; LOZANO, E. R. Side effects of organic products on *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platygasteridae). **Journal of Economic Entomology**, v. 113, n. 4, p. 1694-1701, 2020. DOI: 10.1093/jeet/toaa119
- BUSTAMANTE, D. E.; OLIVA, M.; LEIVA, S.; MENDOZA, J. E.; BOBADILLA, L.; ÂNGULO, G.; CALDERON, M. S. Phylogeny and species delimitations in the entomopathogenic genus *Beauveria* (Hypocreales, Ascomycota), including the description of *B. Peruviansis* sp. **MycoKeys**, v. 58, p. 47-68, 2019. DOI: 10.3897/mycokeys.58.35764
- CHEN, C. The CiteSpace Manual. **College of Computing and Informatics**, v. 103, n. 3, p. 1003-1022, 2014.
- DARA, S. K. Entomopathogenic fungi as key players in crop protection and production. **Progressive Crop Consultant**, p. 1-7. 2018.
- DESTÉFANO, R. H. R.; DESTÉFANO, S. A. L.; MESSIAS, C. L. Detection of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* within infected sugarcane borer *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera, Pyralidae) using specific primers. **Genetics and Molecular Biology**, v. 27, n. 2, p. 245-252, 2004. DOI: 10.1590/S1415-47572004000200020

- DI DOMENICO, F. **A cartilha como ferramenta de disseminação do conhecimento sobre o controle biológico de pragas**. 2019. 52 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação - Ciências Biológicas) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2019.
- FARIA, M. R.; WRIGHT, S. P. Mycoinsecticides and Mycoacaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. **Biological Control**, v. 43, n. 3, p. 237-256, 2007. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2007.08.001
- HE, K.; ZHANG, J.; ZENG, Y. Knowledge domain and emerging trends of agricultural waste management in the field of social science: a scientometric review. **Science of the Total Environment**, v. 670, p. 236-244, 2019. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.03.184
- HODGE, K. T.; GAMS, W.; SAMSON, R. A.; KORF, R. P.; SEIFERT, K. A. Lectotypification and status of *Isaria*. **Taxon**, v. 54, n. 2, p. 485-489, 2005. DOI: 10.2307/25065379
- IGNOFFO, C. M.; HOSTETTER, D. L.; GARCIA, C.; PINNELL, R. E. Sensitivity of the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi* to chemical pesticides used on soybeans. **Environmental Entomology**, v. 4, n. 5, p. 765-768, 1975. DOI: 10.1093/ee/4.5.765
- IMOULAN, A.; HUSSAIN, M.; KIRK, P. M.; MEZIANE, A. E.; YAO, Y. J. Entomopathogenic fungus *Beauveria*: Host specificity, ecology and significance of morpho-molecular characterization in accurate taxonomic classification. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 20, n. 4, p. 1204-1212, 2017. DOI: 10.1016/j.aspen.2017.08.015
- KEPPANAN, R.; KRUTMUANG, P.; SIVAPERUMAL, S.; HUSSAIN, M.; BEMISILE, B. S.; AGUILA, L. C. R.; DASH, K. C.; WANG, L. Synthesis of mycotoxin protein IP8 by the entomopathogenic fungus *Isaria fumosorosea* and its toxic effect against adult *Diaphorina citri*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 125, p. 1203-1211, 2019. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.09.093
- KIDANU, S.; HAGOS, L. Entomopathogenic fungi as a biological pest management option: A Review. **International Journal of Research Studies in Agricultural Sciences**, v. 6, n. 6, p. 1-10, 2020. DOI: 10.20431/2454-6224.0606001
- LUANGSA-ARD, J. J.; HYWEL-JONES, N. L.; MANOCH, L.; SAMSON, R. A. On the relationships of Paecilomyces sect. Isarioidea species. **Mycological Research**, v. 109, n. 5, p. 581-589, 2005. DOI: 10.1017/S0953756205002741
- MAPA. **Agrofit: consulta aberta**. 2022. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agro_fit_cons>. Acesso em: 18 mar. 2022.
- MASCARIN, G. M.; LOPES, R. B.; DELALIBERA JR, I.; FERNANDES, E. K. K.; LUZ, C.; FARIA, M. Current status and perspectives of fungal entomopathogens used for microbial control of arthropod pests in Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 165, p. 46-53, 2019. DOI: 10.1016/j.jip.2018.01.001
- NEVES, P. M. O. J.; HIROSE, E.; TCHUJO, P. T.; MOINO JR, A. Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoid insecticides. **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 2, p. 263-268, 2001. DOI: 10.1590/s1519-566x2001000200009
- PARRA, J. R. P. Biological control in Brazil: An overview. **Scientia Agricola**, v. 71, n. 5, p. 420-429, 2014. DOI: 10.1590/0103-9016-2014-0167
- POTRICH, M.; DALLACORT, S.; LUCKMAN, D.; LOZANO, E. R.; PEGORINI, C. S.; SIMIONATTO, D. Compatibility of *Beauveria bassiana* and alternative phytosanitary products. **Journal of Applied Microbiology**, v. 125, n. 6, 2018. DOI: 10.1111/jam.14072
- POTRICH, M.; ALVES, L. F. A.; LOZANO, E. R.; ROMAN, J. C.; PIETROWSKI, V.; NEVES, P. M. O. J. Interactions between *Beauveria bassiana* and *Trichogramma pretiosum* under laboratory conditions. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 154, n. 3, 2015. DOI: 10.1111/eea.12272
- POTRICH, M.; ALVES, L. F. A.; LOZANO DA SILVA, E. R.; BONINI, A. K.; NEVES, P. M. O. J. Potential side effects of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* on the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) under controlled conditions. **Journal of Economic Entomology**, v. 110, n. 6, 2017. DOI: 10.1093/jee/tox257
- POTRICH, M.; ALVES, L. F. A.; HASS, J.; LOZANO DA SILVA, E. R.; DAROS, A.; PIETROWSKI, V.; NEVES, P. M. O. J. Selectivity of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* to *Trichogramma pretiosum rileyi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Neotropical Entomology**, v. 38, n. 6, 2009. DOI: 10.1590/s1519-566x2009000600016
- POTRICH, M.; LIBARDONI, G.; ALVES, L. F. A.; PIETROWSKI, V.; LOZANO DA SILVA, E. R.; NEVES, P. M. O. J. Is *Isaria fumosorosea* selective to *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae)? **European Journal of Entomology**, v. 117, p. 110-117, 2020. DOI: 10.14411/eje.2020.012
- QU, S.; WANG, S. Interaction of entomopathogenic fungi with the host immune system. **Developmental and Comparative Immunology**, v. 83, p. 96-103, 2018. DOI: 10.1016/j.dci.2018.01.010
- QUINTELA, E. D.; TEIXEIRA, S. M.; FERREIRA, S. B.; GUIMARÃES, W. F. F.; OLIVEIRA, L. F. C.; CZPAK, C. **Desafios do Manejo Integrado de Pragas da Soja no Brasil Central**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2007. 6 p. (Embrapa Arroz e Feijão. Comunicado Técnico, 149)
- RANGEL, D. E. N.; BRAGA, G. U. L.; ANDERSON, A. J.; ROBERTS, D. W. Variability in conidial thermotolerance of *Metarhizium anisopliae* isolates from different geographic origins. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 88, n. 2, p. 116-125, 2005. DOI: 10.1016/j.jip.2004.11.007
- RESEARCH AND MARKETS. **Global Biopesticides Market (2020 to 2025) - Increase in acceptance of organic food presents opportunities**. 2020. Disponível em: <https://www.globenewswire.com/news-release/2020/06/25/2053413/0/en/Global-Biopesticides-Market-2020-to-2025-Increase-in-Acceptance-of-Organic-Food-Presents-Opportunities.html>. Acesso em 18 mar. 2022.

- ROGGIA, S.; GUEDES, J. V. C.; ROGGIA, R. C. R. K.; VASCONCELOS, G. J. N.; NAVIA, D.; DELALIBERA-JUNIOR, I. Ácaros predadores e o fungo *Neozygites floridana* associados a tetrânicos em soja no Rio Grande do Sul. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 44, n. 1, p. 107-110, 2009. DOI: 10.1590/S0100-204X2009000100015
- ROY, H. E.; VEJA, F. E.; CHANDLER, D.; GOETTEL, M. S.; PELL, J.; WAJNBERG, E. *The Ecology of Fungal Entomopathogens*. Amsterdam: Springer, 2010. 198 p.
- RUIU, L. Microbial biopesticides in agroecosystems. *Agronomy*, v. 8, n. 11, p. 1-12, 2018. DOI: 10.3390/agronomy8110235
- SHAPIRO-ILAN, D. I.; LEWIS, E. E.; CAMPBELL, J. F.; KIM-SHAPIRO, D. B. Directional movement of entomopathogenic nematodes in response to electrical field: Effects of species, magnitude of voltage, and infective juvenile age. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 109, n. 1, p. 34-40, 2012. DOI: 10.1016/j.jip.2011.09.004
- SOSA-CÓMEZ, D. R. Microbial control of soybean pest insects and mites. In: LACEY, L. A. (Ed.). *Microbial control of insect and mite pests*. Yakima: Academic Press, 2017. p. 199-208. DOI: 10.1016/B978-0-12-803527-6.00013-5
- THOMAS, M. B.; READ, A. F. Can fungal biopesticides control malaria? *Nature Reviews Microbiology*, v. 5, n. 5, p. 377-383, 2007. DOI: 10.1038/nrmicro1638
- VAN LENTEREN, J. C.; BOLCKMANS, K.; KÖHL, J.; RAVENSBERG, W. J.; URBANEJA, A. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *BioControl*, v. 63, n. 1, p. 39-59, 2018. DOI: 10.1007/s10526-017-9801-4
- VAN LENTEREN, J. C. The state of commercial augmentative biological control: Plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. *BioControl*, v. 57, n. 1, p. 1-20, 2012. DOI: 10.1007/s10526-011-9395-1
- VEGA-AQUINO, P.; SANCHEZ-PEÑA, S.; BLANCO, C. A. Activity of oil-formulated conidia of the fungal entomopathogens *Nomuraea rileyi* and *Isaria tenuipes* against lepidopterous larvae. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 103, n. 3, p. 145-149, 2010. DOI: 10.1016/j.jip.2009.12.002
- VEGA, F. E.; GOETTEL, M. S.; BLACKWELL, M.; CHANDLER, D.; JACKSON, M. A.; KELLER, S.; KOIKE, M.; MANIANIA, K. K.; MONZÓN, A.; OWLEY, B. H.; PELL, J. K.; RANGEL, D. E. N.; ROY, H. E. Fungal entomopathogens: new insights on their ecology. *Fungal Ecology*, v. 2, n. 4, p. 149-159, 2009. DOI: 10.1016/j.funeco.2009.05.001
- VISALAKSHI, M.; KISHORE-VARMA, P.; CHANDRA SEKHAR, V.; BHARATHALAXMI, M.; MANISHA, B. L.; UPENDHAR, S. Studies on mycosis of *Metarhizium (Nomuraea) rileyi* on *Spodoptera frugiperda* infesting maize in Andhra Pradesh, India. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, v. 30, n. 1, 2020. DOI: 10.1186/s41938-020-00335-9
- WANG, C.; WANG, S. Insect Pathogenic Fungi: Genomics, Molecular Interactions, and Genetic Improvements. *Annual Review of Entomology*, v. 62, p. 73-90, 2017. DOI: 10.1146/annurev-ento-031616-035509
- WU, J.; YANG, B.; XU, J.; CUTHBERTSON, A. G. S.; ALL, S. Characterization and toxicity of crude toxins produced by *Cordyceps fumosorosea* against *Bemisia tabaci* (Gennadius) and *Aphis craccivora* (Koch). *Toxins*, v. 13, n. 220, 2021. DOI: 10.3390/toxins13030220
- ZIMMERMANN, G. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and Technology*, v. 17, n. 6, p. 553-596, 2007. DOI: 10.1080/09583150701309006
- ZIMMERMANN, G. The entomopathogenic fungi *Isaria farinosa* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosorosea* species complex (formerly *Paecilomyces fumosoroseus*): Biology, ecology and use in biological control. *Biocontrol Science and Technology*, v. 18, n. 9, p. 865-901, 2008. DOI: 10.1080/09583150802471812

Manejo de pragas com parasitoides

*Adeney de Freitas Bueno
José Roberto Postalí Parra
Fernanda Caroline Colombo
Yelitza Coromoto Colmenarez
Bianca Vique Fernandes Narde
Fabrício Fagundes Pereira*

A importância dos parasitoides no manejo de pragas

Insetos parasitoides são aqueles que obrigatoriamente matam o hospedeiro (no presente caso um inseto-praga), necessitam de apenas um indivíduo hospedeiro para completar seu ciclo de vida e o adulto tem vida livre (Parra et al., 2021). Estima-se que haja cerca de 200 mil diferentes espécies de parasitoides ao redor do mundo. As espécies geralmente mais encontradas na cultura da soja são pertencentes às ordens Diptera e Hymenoptera (Bueno et al., 2012). A ocorrência destes parasitoides no sistema produtivo da soja é extremamente importante na redução populacional de pragas, no contexto do controle biológico natural (Tabela 1), ou como um biodefensivo aplicado dentro de programas de controle biológico aumentativo (Tabela 2).

Esses parasitoides podem ser classificados de acordo com o seu desenvolvimento em endoparasitoides ou ectoparasitoides, ou ainda, como parasitoides solitários ou gregários. Endoparasitoides são aquelas espécies que têm seu desenvolvimento no interior do hospedeiro. Os ectoparasitoides se desenvolvem na parte externa dos organismos do qual estão se alimentando (Parra et al., 2021). Parasitoides solitários são aqueles em que um único indivíduo se desenvolve por organismo atacado. Os parasitoides gregários se caracterizam pelo desenvolvimento de múltiplos indivíduos por hospedeiro (Parra et al., 2021; Costa et al., 2006).

Os parasitoides também podem ser divididos em especialistas ou generalistas de acordo com a gama de hospedeiros viáveis. Quando a espécie de parasitoide ataca um grupo restrito de espécies hospedeiras, essa é considerada especialista. Já um parasitoide generalista é capaz de parasitar um amplo número de hospedeiros. Na soja, os parasitoides de maior importância econômica são aqueles que controlam os dois principais grupos de pragas da cultura (lagartas e percevejos) e por isso, esse capítulo será focado nesse grupo de parasitoides.

Parasitoides de lepidópteros para o manejo de lagartas

Entre os parasitoides que apresentam melhores resultados de controle de pragas da Ordem Lepidoptera, estão os parasitoides de ovos (Parra et al., 1987). Esses parasitoides se destacam no controle

Tabela 1. Exemplos de ocorrência natural de parasitoides de pragas em soja e respectiva intensidade ou frequência de seu parasitismo reportado por espécie hospedeira.

Espécie	Hospedeiro	Intensidade/Frequência	Referência
<i>Apanteles</i> sp. (Hymenoptera)	Lagartas de Plusiinae	0 a 2% das lagartas parasitadas	Moraes et al. (1991)
<i>Campoletis sonorensis</i> (Hymenoptera)	Lagartas de Plusiinae	0 a 24% das lagartas parasitadas	Moraes et al. (1991)
<i>Casitaria plusiae</i> (Hymenoptera)	Lagartas de Plusiinae	0 a 10% das lagartas parasitadas	Moraes et al. (1991)
<i>Copidosoma floridanum</i> (Hymenoptera)	Lagartas de Plusiinae	13% a 65% das lagartas parasitadas	Moraes et al. (1991)
<i>Cotesia grenadensis</i> (Hymenoptera)	Lagartas de Plusiinae	0 a 24% das lagartas parasitadas	Moraes et al. (1991)
<i>Encarsia porteri</i> (Hymenoptera)	Ovos de <i>Anticarsia gemmatilis</i>	0,5% dos ovos parasitados	Foerster; Avanci (1999)
<i>Euphorocera</i> sp. (Diptera)	Lagartas de Plusiinae	0 a 13% das lagartas parasitadas	Moraes et al. (1991)
<i>Hexacladia smithii</i> (Hymenoptera)	Adultos de <i>Euschistus heros</i>	0,6% a 90% de parasitismo	Corrêa-Ferreira et al. (1998); Nunes (2000); Turchen et al. (2015)
	Adultos de <i>Edessa mediatubunda</i>	Não consta na publicação	Panizzi; Corrêa-Ferreira (1997)
<i>Mesochorus discitergus</i> (Hymenoptera)	Lagartas de Plusiinae	0 a 6% das lagartas parasitadas	Moraes et al. (1991)
<i>Meteorus</i> sp. (Hymenoptera)	Lagartas de Plusiinae	0 a 42% das lagartas parasitadas	Moraes et al. (1991)
<i>Microcharops anticarsiae</i> (Hymenoptera)	Lagartas de <i>Anticarsia gemmatilis</i>	12% a 32% de parasitismo	Gil (2016)
<i>Telenomus cyamophylax</i> (Hymenoptera)	Ovos de <i>Anticarsia gemmatilis</i>	1,5% dos ovos parasitados	Foerster; Avanci (1999)
<i>Telenomus edessae</i> (Hymenoptera)	Ovos de <i>Edessa mediatubunda</i>	0,4% de parasitismo	Corrêa-Ferreira; Moscardi (1995)
	Ovos de <i>Chinavia</i> sp.	3,4% de parasitismo	Corrêa-Ferreira; Moscardi (1995)
	Ovos de <i>Diceraeus melacanthus</i>	25% a 50% de parasitismo	Corrêa-Ferreira; Moscardi (1995); Carvalho (2007)
<i>Telenomus podisi</i> (Hymenoptera)	Ovos de <i>Euschistus heros</i>	43,4% de parasitismo	Corrêa-Ferreira; Moscardi (1995)
	Ovos de <i>Nezara viridula</i>	0,1% de parasitismo	Corrêa-Ferreira; Moscardi (1995)
	Ovos de <i>Piezodorus guildinii</i>	20,9% de parasitismo	Corrêa-Ferreira; Moscardi (1995)
	Ovos de <i>Anticarsia gemmatilis</i>	3,6% dos ovos parasitados	Foerster; Avanci (1999)
<i>Trichogramma atopovirilia</i> (Hymenoptera)	Ovos de <i>Anticarsia gemmatilis</i>	3,6% dos ovos parasitados	Foerster; Avanci (1999)
<i>Trichogramma pretiosum</i> (Hymenoptera)	Ovos de <i>Anticarsia gemmatilis</i>	Mais de 90% dos ovos parasitados	Foerster; Avanci (1999)
<i>Trichogramma rojasi</i> (Hymenoptera)	Ovos de <i>Anticarsia gemmatilis</i>	2,5% dos ovos parasitados	Foerster; Avanci (1999)
	Ovos de <i>Chinavia</i> sp.	24% de parasitismo	
	Ovos de <i>Diceraeus melacanthus</i>	16,7% de parasitismo	
<i>Trissolcus basalís</i> (Hymenoptera)	Ovos de <i>Euschistus heros</i>	10,6% de parasitismo	Corrêa-Ferreira; Moscardi (1995)
	Ovos de <i>Nezara viridula</i>	53,8% de parasitismo	
	Ovos de <i>Piezodorus guildinii</i>	22,8% de parasitismo	
	Ovos de <i>Thyanta perditor</i>	23,1% de parasitismo	
	Ovos de <i>Edessa mediatubunda</i>	14,2% de parasitismo	
<i>Trissolcus urichi</i> (Hymenoptera)	Ovos de <i>Edessa mediatubunda</i>	14,2% de parasitismo	Corrêa-Ferreira; Moscardi (1995)
<i>Voria ruralis</i> (Diptera)	Lagartas de Plusiinae	0 a 24 % das lagartas parasitadas	Moraes et al. (1991)

Tabela 2. Parasitoides de ovos registrados para comercialização como biodefensivos na agricultura (Mapa, 2022).

Parasitoide	Hospedeiro	Capacidade de parasitismo (total/fêmea)	Referências	Produto comercial (empresa produtora e número do registro no Brasil)	Alvos registrados
<i>Telenomus podisi</i>	<i>Euschistus heros</i>	104,1 a 211 ovos	Silva et al. (2018); Pacheco; Corrêa-Ferreira (2000)	Podisibug (CP2 Ltda, 43919);	<i>Euschistus heros</i>
				JB TEL-P (JB Biotecnologia, 4921);	
				Telper (Topbio, 32120).	
<i>Trichogramma pretiosum</i>	<i>A. gemmatalis</i>	29,6 a 52,4 ovos	Bueno et al. (2012)	Hunter (Koppert, 10115);	<i>Anticarsia gemmatalis</i>
	<i>C. includens</i>	28,5 a 54,4 ovos		JB Tri-P (JB Biotecnologia, 29118);	
	<i>S. frugiperda</i>	9,1 a 30,1 ovos	Bueno et al. (2010)	Pretiobug (CP2 Ltda, 2315);	<i>Chrysodeixis includens</i>
				TrichoAgri (IBI Agentes Biológicos, 16517);	<i>Helicoverpa zea</i>
				Trichogramma (AMIPA, 40517);	<i>Spodoptera frugiperda</i>
				Trichobio-P (Fambio, 6619);	<i>Tuta absoluta</i>
			Trichomip-P (Promip, 8815);		
			Trichosul (Sul-Mip, 20220);		
			Trilag (Topbio, 29418).		
<i>Trissolcus basalisi</i>	<i>Nezara viridula</i>	79 a 250,4 ovos	Powell; Shepard (1982); Corrêa-Ferreira; Zamataro (1989)	Reacher (Koppert, 40317)	<i>Nezara viridula</i>

biológico aumentativo por atacar a praga em seu primeiro estágio de desenvolvimento (ovo), antes de qualquer injúria ser causada às plantas (Parra; Coelho Jr, 2019). Essa característica pode ser considerada uma “vantagem” do ponto de vista aplicado, pois é uma garantia ao usuário da tecnologia, que em caso de qualquer falha de controle, ainda há tempo hábil para uso de outra ferramenta de manejo, evitando prejuízo na produtividade da lavoura. Por outro lado, essa característica é também um “desafio” para adoção desse biodefensivo, pois o sojicultor está, em geral, mais habituado a monitorar e controlar lagartas ou percevejos que são de fato os causadores de dano na lavoura.

Assim, para usar os parasitoides de ovos adequadamente, esses sojicultores precisarão monitorar os ovos que darão origem as pragas ou algum outro parâmetro na lavoura que tenha correlação positiva com o número de ovos dessas pragas. Isso é necessário visto que os ovos serão os alvos biológicos controlados na liberação desses parasitoides. Sendo assim, avanços nas estratégias de monitoramento de pragas, assim como a melhor determinação do momento economicamente mais vantajoso para liberação desses parasitoides podem ainda ser considerados desafios da tecnologia, e por isso demandas importantes de pesquisa, visando principalmente aprimorar ainda mais a eficiência desses biodefensivos. De qualquer forma o uso do controle biológico aumentativo com parasitoides de ovos já é uma realidade na sojicultura

brasileira e será abordado em mais detalhes ao logo desse capítulo.

Em geral, esses insetos, são popularmente conhecidos como “vespinhas”. No campo se destacam por serem capazes de parasitar os ovos das pragas em todas as regiões da planta. Podem ser considerados, em alguns casos, até mais eficientes que os próprios inseticidas químicos que muitas vezes, não atingem seus alvos biológicos devido ao “efeito guarda-chuva”. Esse efeito ocorre quando as folhas do dossel da planta protegem os insetos da aplicação do produto químico, de modo semelhante a ação de um guarda-chuva.

Entre as espécies de parasitoides de Lepidoptera, aquelas do gênero *Trichogramma* têm se destacado e são amplamente utilizadas, principalmente em razão da sua facilidade de criação em hospedeiros alternativos (Parra, 1997) e da sua agressividade no parasitismo de ovos de vários insetos-praga (Botelho, 1997). Na soja, a espécie de *Trichogramma* mais usualmente encontrada é *Trichogramma pretiosum* (Hohmann et al., 1989), sendo responsável por mais de 90% do parasitismo de ovos de lepidópteros observados nessa cultura (Foerster; Avanci, 1999) (Tabela 1). Em razão desse potencial, *T. pretiosum* foi o primeiro microbiológico registrado para uso comercial no manejo de pragas da soja. Em 12 de julho de 2013 foi publicada no Diário Oficial da União no Brasil, a instrução normativa conjunta SDA/SDC número 2, contendo a especificação de referência de uso de *T. pretiosum* para o manejo de *Anticarsia gemmatalis* e *Chrysodeixis includens* na soja ou outras culturas onde essas pragas ocorrerem. A especificação de referência é o primeiro passo para o registro de um biodefensivo no Brasil, bem como a base das recomendações finais que constam na bula do produto comercial que contém esse organismo como o agente controlador da praga em campo.

Trichogramma pretiosum, assim como as demais espécies do mesmo gênero, são insetos diminutos de tamanho variando entre 0,2 mm e 1,5 mm de comprimento (Pinto, 1998). Essa variação é diretamente proporcional ao tamanho do ovo hospedeiro (Bai et al., 1992). Em geral, a identificação das espécies do gênero é difícil, dependendo de variações morfológicas que têm sido observadas principalmente na genitália do macho (Pinto et al., 1989). Populações reprodutivamente incompatíveis foram reportadas na literatura, sugerindo a presença de espécies crípticas (Pinto, 1998), o que dificulta ainda mais a separação entre as espécies.

O tempo de desenvolvimento de ovo a adulto de *T. pretiosum* a 25 °C em ovos de *A. gemmatalis* e *C. includens* é de 10,3 e 10,0 dias, respectivamente (Buono et al., 2009) e o desenvolvimento é dividido em ovo, larva e pupa que ocorrem obrigatoriamente dentro do ovo hospedeiro (endoparasitoide) e a fase adulta de vida livre (Figura 1). Uma única fêmea desse parasitoide que mede menos de 0,5 mm é capaz de parasitar em torno de 50 ovos de seus hospedeiros em 4 a 5 dias de vida do adulto (Tabela 2), ilustrando seu potencial como agente de controle biológico aplicado.

Quando utilizados na soja, devem ser liberados segundo as informações contidas na bula dos produtos comerciais, na quantidade de 500.000 parasitoides/ha na fase vegetativa da cultura ou 750.000 parasitoides/ha se a soja estiver na fase reprodutiva, divididos em três liberações em pelo menos 50 pontos por hectare, com intervalos de quatro dias. A liberação pode ser realizada com os parasitoides na fase de pupas ou adultos com ou sem o uso de cápsulas de liberação. O número de liberações necessárias dependerá da pressão de mariposas na área, sendo recomendado no mínimo duas aplicações em intervalo de quatro dias (Mapa, 2022).

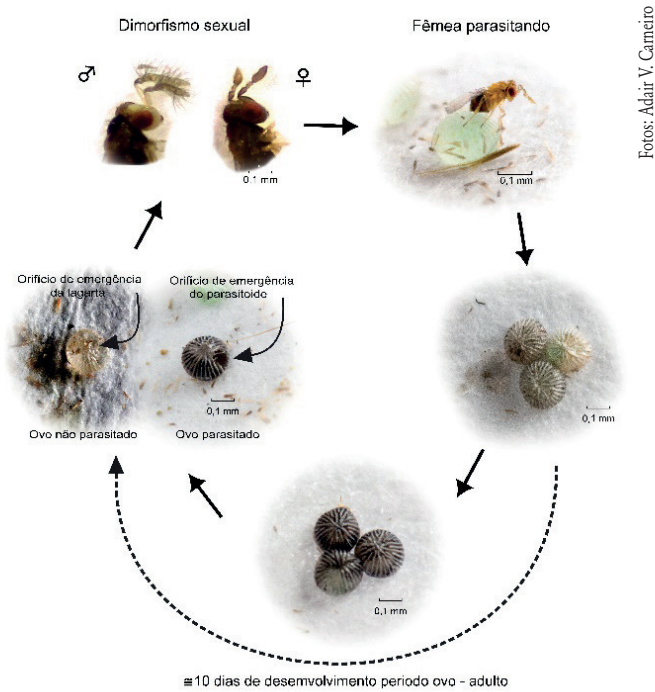


Figura 1. Ciclo biológico de *Trichogramma pretiosum* parasitando ovos de *Anticarsia gemmatalis*.

Na safra 2013/2014 houve um programa piloto de liberação de *T. pretiosum* em lavouras de soja no estado do Paraná. Este programa foi conduzido em parceria entre a EMATER PR, que atualmente faz parte do IDR-Paraná, e a Embrapa Soja. Um total de 46 lavouras de soja foram conduzidas segundo um protocolo específico de Manejo Integrado de Pragas (MIP) em diferentes municípios das regiões norte e oeste do estado e consideradas como Unidades de Referência (UR). As URs em que as intervenções foram realizadas apenas com o controle químico foram classificadas como MIP (27 URs) e as demais (19 URs), onde ao MIP foi associado à liberação de *T. pretiosum* para manejo de lagartas foram nomeadas como unidades de MIP associado ao Controle Biológico (MIP+CB).

Cada UR MIP+CB foi conduzida distanciada no mínimo 100 metros da UR MIP conduzida na mesma propriedade. As liberações do parasitoides se iniciaram em torno de três dias após a detecção visual ou por armadilhas luminosas da presença das primeiras mariposas na lavoura. Em alguns casos, quando as condições de chuva impediram a liberação dos parasitoides, estes permaneceram por um período máximo de cinco dias em geladeira, aguardando melhores condições climáticas para serem liberados. Foram realizadas duas liberações por área, utilizando uma cartela com 48 células por hectare, perfazendo um total de 100 mil parasitoides por hectare em cada liberação. As células (cápsulas de liberação) foram distribuídas ao acaso e uniformemente na área. Sempre que o nível de ação de 30% de desfolha no estágio vegetativo da lavoura ou 15% no estágio reprodutivo foi atingindo, o controle químico foi utilizado, independentemente de ser uma UR MIP ou UR MIP+CB (Conte et al., 2014).

Nos resultados obtidos, constatou-se um número menor de aplicações de inseticidas nas URs que foram conduzidas com liberações de *T. pretiosum* em relação àquelas URs de MIP que usaram apenas o controle químico. Além disso, observou-se ainda um maior tempo necessário até o nível de ação ser atingido e a primeira aplicação de inseticida então ser realizada (Tabela 3). A possibilidade de adiamento da primeira aplicação de inseticida na lavoura tem uma implicação prática importante. Isso permite maior preservação de abelhas e outros insetos benéficos, como os inimigos naturais que buscam pólen nas flores de soja para alimentação. As URs de MIP já mostraram maior tempo até a primeira aplicação de inseticidas em relação às áreas sem adoção de MIP.

A adoção do CB dentro do MIP aumentou ainda mais esse tempo, sendo próximo ou superior a 60 dias (Tabela 3), tempo suficiente para a soja, em sua maioria, finalizar a maior parte de sua floração. Nas URs, os custos de produção finais entre MIP e MIP+CB foram similares e significativamente inferiores ao do manejo tradicional dos produtores que não adotaram MIP (Tabela 3). Os benefícios do uso de *T. pretiosum* no contexto de MIP são econômica e ambientalmente positivos. O uso desse parasitoide de ovos é viável, propiciando um menor uso de inseticidas químicos (Conte et al., 2014). Isso garante a boa produtividade associada a menor impacto ambiental, característica extremamente importante e até utilizada como barreiras não alfandegárias na exportação da soja para muitos países (Bueno et al., 2021). Nesse contexto, o uso de *T. pretiosum* se mostrou eficiente e uma boa alternativa ao sojicultor dentro do MIP-Soja.

Outro parasitoide com potencial de controle de diferentes espécies de lepidópteros na cultura da soja é *Tetrastichus howardi* (Tabela 4). Este inseto é um endoparasitoide gregário, primário ou secundário (La Salle; Polaszek, 2007) que parasita lagartas (Figura 2) e pupas de diferentes espécies de lepidópteros pragas da soja. O período de desenvolvimento de ovo a adulto varia de 16-18 dias a 25 °C. As fêmeas possuem corpo com comprimento de 1,6 a 2,2mm, enquanto os machos medem de 1,3 a 1,8mm. Os adultos apresentam marcante dimorfismo sexual pelas antenas em estrutura, distribuição e abundância de sensilas antenais. Machos e fêmeas de *T. howardi* também podem ser separados devido a cor da coxa e do fêmur nas pernas anteriores, marrom avermelhado em fêmeas e amarelo-clara em machos (González et al., 2003).

O parasitoide *T. howardi* ocorre naturalmente em diversos lepidópteros-praga (Baitha et al., 2004; La Salle; Polaszek, 2007; Prasad et al., 2007; Silva-Torres et al., 2010), inviabilizando a emergência de adultos no campo. Recentemente, foi também observado, no Brasil, parasitando pupas de *Diatraea saccharalis* em milho e cana-de-açúcar (Cruz et al., 2011; Vargas et al., 2011).

Tabela 3. Análise comparativa entre resultados médios de diferentes estratégias de manejo de pragas utilizadas na soja. Paraná, safra 2013/2014.

Manejo ¹	Número médio de aplicações	Dias até 1ª aplicação	Custo R\$/ha ²			Custo ² (sc/ha)	Produtividade (kg/ha)
			Insumos ³	Serviço ⁴	Total		
MIP+CB	2,05	61	88,2	56,7	144,8	2,4	2903,4
MIP	2,60	54	80,1	64,5	144,6	2,4	3004,2
sem MIP	4,99	-	178,6	123,5	302,1	5,0	2920,2

¹MIP+CB: Manejo integrado de pragas com controle biológico (liberação de *T. pretiosum*) (19 lavouras); MIP: Manejo integrado de pragas (27 lavouras); sem MIP: Manejo convencional de produtores que não adotam MIP (333 produtores). ²Preços médios: Saca de soja = R\$ 60,00; Serviços de pulverização = R\$ 24,79/ha; Cartela *T. pretiosum* = R\$ 15,00; Serviço mão de obra de liberação *T. pretiosum* = R\$ 5,83/ha. ³Valor do inseticida de R\$ 54,10 e custo médio da cartela de *T. pretiosum* de R\$ 34,05/ha. ⁴Serviço de pulverização de R\$ 50,82 e mão de obra para liberação de *T. pretiosum* de R\$ 5,83/ha.

Fonte: adaptado de Conte et al. (2014).

Tabela 4. Registro de hospedeiros para *Tetrastichus howardi* no Brasil em lepidópteros pragas da soja em condições de laboratório.

Espécies	Autores
<i>Anticarsia gemmatalis</i>	Fernandes (2016)
<i>Spodoptera frugiperda</i>	Luccheta (2016)
<i>Helicoverpa armigera</i>	Oliveira et al. (2016)
<i>Chrysodeixis includens</i>	Barbosa (2022)



Foto: Winnie Cezario Fernandes

Figura 2. Fêmeas de *T. howardi* parasitando lagartas de *Anticarsia gemmatalis*.

Até o momento este parasitoide tem apenas o Registro Experimental Temporário (RET) para as culturas da soja, milho, eucalipto, e cana de açúcar. Sua especificação de referência já foi estabelecida para *Thyrinteina arnobia* em eucalipto e está sendo publicada em breve no Diário Oficial da União pelo Ministério da Agricultura para *Diatraea saccharalis* em cana-de-açúcar, *S. frugiperda* e *C. includens* em soja. Isso irá aplicar ainda mais o potencial de uso dos macrobiológicos no manejo integrado de pragas dessas culturas. Os resultados dos estudos realizados para o registro definitivo têm mostrado uma eficiência maior que 50% no controle de *S. frugiperda* na cultura do milho e *C. includens* na cultura da soja, utilizando de 8.000 a 10.000 parasitoides por hectare, podendo ser realizada de 2 a 3 liberações dependendo da infestação da praga (Figura 3).

Esse parasitoide apresenta uma facilidade de multiplicação em hospedeiro alternativo, bem como a capacidade de parasitar duas fases de desenvolvimento das pragas alvos (lagartas e pupas). Essa flexibilidade pode aumentar as chances de sucesso do uso aplicado desse parasitoide, permitindo que o mesmo permaneça em campo, controlando a praga por um maior período (Pereira et al., 2021).

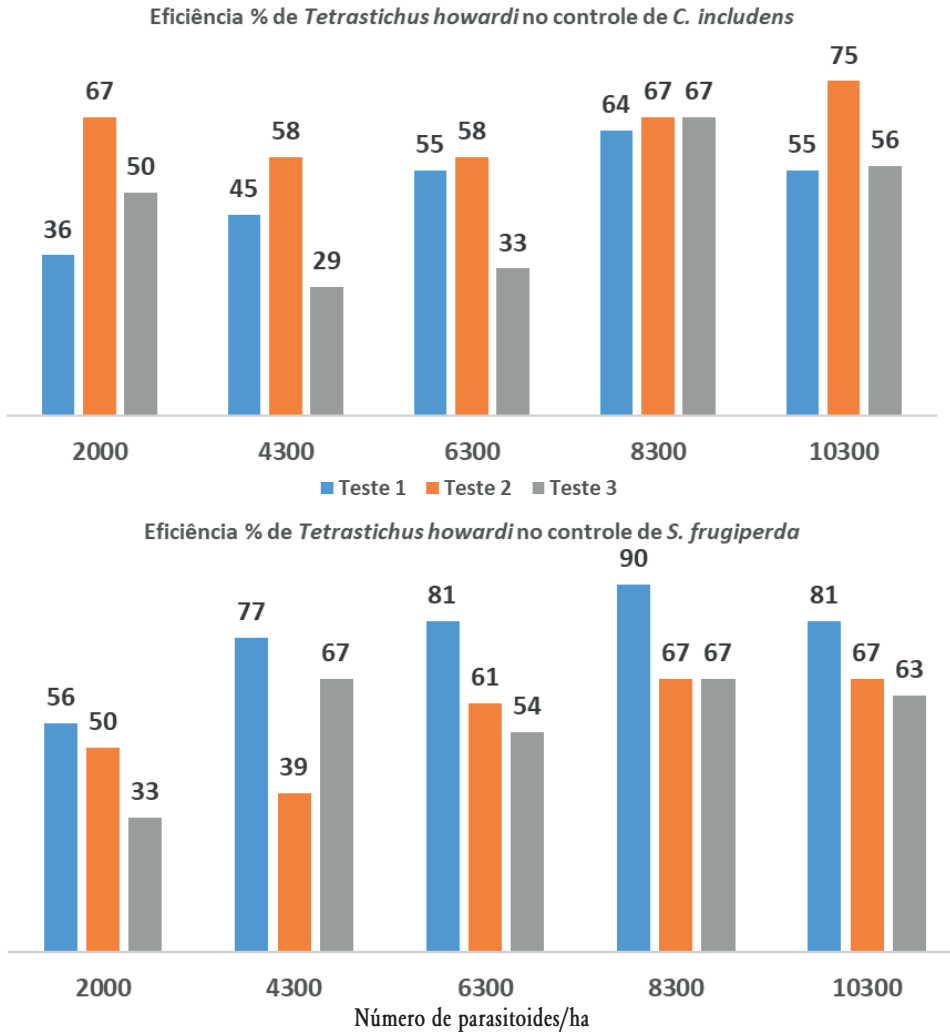


Figura 3. Eficiência de *Tetrastichus howardi* no controle de *Chrysodeixis includens* na soja e *Spodoptera frugiperda* em milho em ensaios realizados em Paraopeba, MG, safra 2020/2021.

Figura: Bianca Vique Fernandes Narde.

Parasitoides de hemípteros no manejo de percevejos

Há número significativo de espécies de micro himenópteros que são parasitoides de percevejos sendo grande parte deles parasitoides de ovos. Já foram constatadas 23 espécies de parasitoides de ovos de percevejos na cultura da soja, sendo esses inimigos naturais considerados os mais importantes agentes de mortalidade desse grupo de praga. Eles são frequentemente responsáveis por manter as populações de percevejos naturalmente abaixo dos níveis de ação (sem a necessidade de aplicar inseticidas). Entre as espécies de parasitoides de ovos, *Telenomus podisi* e *Trissolcus basalís* são as mais importantes (Bueno et al., 2012).

Até 1999, o percevejo-verde *N. viridula* foi a espécie mais abundante em 44% das áreas de soja (Panizzi; Lucini, 2016) e *T. basalis* foi responsável por mais de 90% do parasitismo natural de ovos desse percevejo (Foerster; Queiroz, 1990). Esse parasitoide foi bastante estudado e seu uso no controle biológico de percevejos desenvolvido por meio de liberações inoculativas sazonais. Na safra 1991/1992 foi implantado um programa piloto na preservação de bacias hidrográficas em diferentes municípios do estado do Paraná visando reequilibrar o ambiente por meio de um sistema mais estável de controle de percevejos. O programa de controle biológico de percevejos com o uso de *T. basalis* chegou a ser utilizado em mais de 18 mil hectares de soja, obtendo resultados positivos na redução do uso de inseticidas (Corrêa-Ferreira, 2002).

Esses resultados positivos alcançados no manejo de *N. viridula* com a liberação de *T. basalis* fizeram com que esse parasitoide fosse o primeiro agente de controle macro biológico a ser registrado no Brasil para controle de percevejos. Em 6 de novembro de 2015 foi publicado no Diário Oficial da União a instrução normativa conjunta SDA/SPRC número 1 com a especificação de uso de *T. basalis* para controle de *N. viridula* nas culturas em que esse percevejo ocorre. A recomendação é de liberar 5.000 adultos por hectare ou alternativamente liberar esse agente de controle biológico na forma de posturas do percevejo parasitadas. Esses ovos parasitados contendo as pupas do parasitoide devem ser liberados na área um ou dois dias antes da emergência dos adultos, divididos em diferentes pontos nas bordas das lavouras, quando a soja estiver no final do florescimento, momento em que os primeiros percevejos iniciam a colonização e a oviposição na cultura.

Apesar da eficiência comprovada de *T. basalis* no manejo de *N. viridula*, devido a alteração na composição da pentatomofauna verificada na cultura da soja, onde se observou a redução na incidência de *N. viridula* e aumento de *Euschistus heros* (percevejo-marrom) (Panizzi; Lucini, 2016), a espécie de parasitoide de ovo a ser utilizada no controle biológico aplicado também precisou ser alterada. *Telenomus podisi*, por ser a espécie de parasitoide de ovos responsável por mais de 80% do parasitismo observado em ovos de *E. heros* (Pacheco; Corrêa-Ferreira, 2000), passou a ser o agente de controle biológico avaliado para uso em programas de controle biológico aumentativo de percevejos em soja.

Telenomus podisi é um inseto parasitoide de ovos de percevejos, que é naturalmente encontrado no ambiente. O adulto desse inseto é um microhimenóptero (~1,0 mm) que se desenvolve (de ovo a adulto) dentro dos ovos do percevejo hospedeiro, matando-o e impedindo a emergência de ninfas (Figura 3). Assim, no ovo parasitado, ao invés da emergência de uma ninfa de percevejo, emerge um adulto do parasitoide, que continuará parasitando e controlando novos ovos de percevejo durante sua vida adulta. Esse parasitoide é um agente de controle biológico bastante eficaz no controle do percevejo-marrom, sendo que uma fêmea adulta pode parasitar de 104 a 211 ovos desse inseto-praga (Tabela 2) (Pacheco; Corrêa-Ferreira, 2000; Silva et al., 2018).

Considerando que a quantidade de *T. podisi* na natureza pode ser insuficiente para manter a população de percevejos em níveis baixos, o produtor pode liberar esse parasitoide em sua lavoura (Tabela 2) como uma estratégia de controle biológico aumentativo. Isso deve-se ao fato de que, após anos de pesquisa, foi registrado em dezembro de 2019 o primeiro bioproduto com esse agente de controle biológico no Brasil. É importante que o sojicultor que fizer uso dessa “vespinha” no campo fique atento a algumas

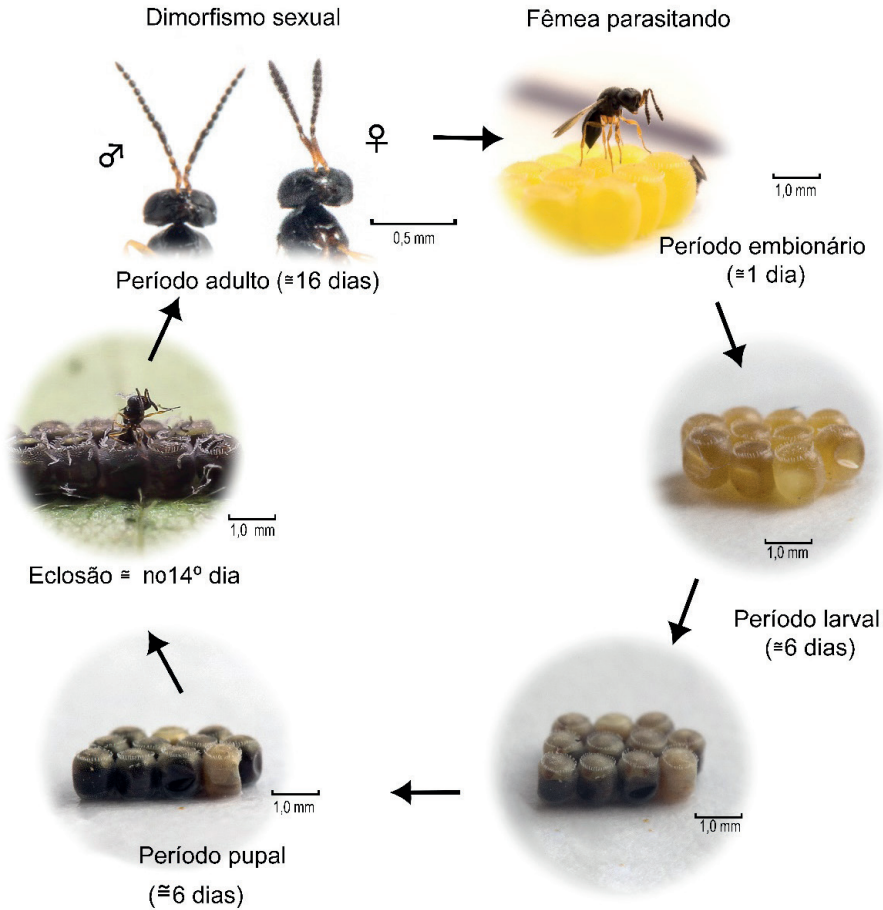


Figura 4. *Telenomus podisi* parasitando ovos do percevejo *Euschistus heros*.

peculiaridades. Como esse parasitoide não controla o percevejo e sim os ovos que darão origem aos percevejos, o momento certo de sua utilização no campo é crucial para o seu sucesso. A pesquisa recomenda iniciar a liberação dessas microvespas quando for detectada a presença dos primeiros adultos dos percevejos nas lavouras (e os respectivos primeiros ovos), realizando duas a três liberações no intervalo de sete dias.

Apesar de, em algumas situações, *E. heros* já estar presente na cultura no período vegetativo, esse ainda não causa danos à planta. É importante que o monitoramento do inseto seja realizado durante todos os estádios de desenvolvimento da soja, pois os primeiros ovos são depositados entre o final do período vegetativo e o início da floração. Sendo assim, as liberações do parasitoide devem ser realizadas levando esses fatores em consideração, a fim de aumentar as chances de coincidir a presença do parasitoide no campo com os ovos de percevejos.

A liberação de 6.500 parasitoides por hectare é feita usualmente no estágio de pupa. Essas pupas podem ser distribuídas no campo de forma avulsa ou protegidas dentro de cápsulas contendo ovos parasitados pela “vespinha” que devem ser distribuídos na área, em pontos equidistantes. É importante que essa liberação seja feita o mais próximo possível da emergência dos adultos, evitando-se dias muito quentes (o final da tarde é o período usualmente mais indicado) para reduzir a mortalidade dos parasitoides. Também é importante considerar que essas “vespinhas” são organismos vivos, razão pela qual deve-se evitar aplicações de inseticidas na área onde ocorreu a liberação dos parasitoides, pelo menos 10 dias antes e duas semanas após a liberação desses parasitoides (para mais detalhes sobre a compatibilidade de uso de bioinsumos com agrotóxicos vide capítulo 27).

Logo após a sua emergência no campo, as fêmeas do parasitoide acasalam e em seguida procuram por novas posturas dos percevejos em campo. Ao encontrar os ovos, esses pequenos himenópteros reconhecem o ovo da praga com suas antenas e realizam o parasitismo. Após o parasitismo, as fêmeas de *T. podisi* marcam os ovos recém parasitados com feromônios, raspando seus abdomens nos ovos repetidas vezes para que outras fêmeas do parasitoide não tentem parasitar o mesmo hospedeiro, evitando o superparasitismo. Com o parasitismo, os ovos ficam escuros no decorrer do desenvolvimento embrionário dos parasitoides (Figura 3). Reconhecer a coloração típica desses ovos parasitados em campo é importante para avaliar a taxa de parasitismo. Em trabalhos realizados com o uso aplicado de *T. podisi* em lavouras comerciais de soja, elevou-se o parasitismo natural de ovos, de aproximadamente 10%, para até 70% dos ovos de *E. heros* encontrados após três liberações de 6.500 parasitoides cada, realizada com o parasitoide no estágio de pupa (Bueno et al., 2020), o que ilustra o excelente potencial do parasitoide para o manejo do percevejo em campo.

Principais cuidados na liberação de parasitoides de ovos na cultura soja em programas de controle biológico aumentativo

Os parasitoides de ovos *T. pretiosum* e *T. podisi* são agentes de controle biológico comprovadamente eficientes para o manejo de lepidópteros e percevejos, respectivamente, na cultura da soja. Compõem produtos comerciais que podem ser comprados e aplicados em campo pelo sojicultor (Tabela 2). Entretanto, ainda existem alguns desafios e cuidados especiais na sua utilização que precisam de maior atenção, visando alcançar o maior potencial dos benefícios de sua utilização.

Entre os principais fatores que interferem na eficiência do uso desses parasitoides de ovos em campo destacam-se: i) número (densidade) de insetos liberados; ii) tecnologia de liberação dos parasitoides considerando a dispersão, a frequência de liberação, a predação e o melhor momento (*timing*) da liberação em campo, iii) densidade da praga e condições climáticas no momento da liberação e iv) interações com outros bioinsumos ou químicos sintéticos também utilizados na lavoura (King et al., 1985; Parra 2014; Pinto et al., 2002; Smith et al., 1986).

i) número (densidade) de insetos liberados: a determinação da densidade ideal de parasitoides a ser utilizada é um aspecto muito importante para o sucesso de um programa de controle biológico aumentativo e deve ser considerada em sua implantação. A densidade ideal depende das características

bioecológicas de cada espécie de parasitoide, como por exemplo a sua capacidade de localizar o hospedeiro, a sua preferência alimentar e a sua tolerância às condições ambientais existentes (Hassan, 1994).

Números insuficientes de parasitoides certamente irão levar a um parasitismo baixo, comprometendo a estratégia de manejo ao permitir que a população da praga cresça para níveis indesejáveis (Bueno, 2008). Por outro lado, elevar demasiadamente o número de parasitoides liberados pode ser igualmente um erro. Liberações de números excessivos de parasitoides, além de elevar o custo financeiro da liberação, pode também levar a uma redução no parasitismo devido a competição entre os parasitoides liberados ou mesmo a ocorrência de superparasitismo (Lopes, 1988).

Conforme mencionado anteriormente nesse capítulo, para *T. pretiosum*, os valores recomendados para liberação são de 500.000 ou 750.000 parasitoides por hectare, divididos em três liberações, se a lavoura de soja estiver no período vegetativo ou reprodutivo, respectivamente (Bueno, 2008). Visando reduzir os custos de utilização, as empresas produtoras desse agente de controle biológico estão testando liberações com densidades menores. A eficiência e o sucesso de liberações com número menor de parasitoides do que o informado na especificação de referência ainda carece das devidas publicações científicas que validem e comprovem a eficiência dessa redução. Com relação ao manejo de percevejos, a recomendação é a realização de duas a três liberações de 6.500 *T. podisi* por hectare, o que comprovadamente eleva significativamente o parasitismo na área liberada em comparação com a testemunha sem liberação (Bueno et al., 2020).

ii) tecnologia de liberação dos parasitoides considerando a dispersão, a frequência de liberação, a predação e o melhor momento (*timing*) de liberação em campo: *T. pretiosum* e *T. podisi* podem ser liberados nos estágios de pupa ou adulto de seu desenvolvimento. O estágio de pupa tem sido preferido pelas empresas produtoras que comercializam esses agentes de controle biológico, devido principalmente às facilidades de mecanização do processo de liberação em campo. A mecanização reduz a necessidade de mão de obra e os custos operacionais envolvidos. Ovos dos hospedeiros parasitados, contendo pupas dos parasitoides em seu interior, podem ser facilmente distribuídos na lavoura usando drones. Esses veículos aéreos podem espalhar homogeneamente as pupas dos parasitoides na lavoura dentro de cápsulas protetoras ou mesmo distribuir os ovos dos hospedeiros parasitados de forma avulsa no campo, o que reduz ainda mais o custo da tecnologia. Portanto, é crucial que a liberação seja feita muito próximo da emergência dos adultos para reduzir a mortalidade desses agentes de controle biológico devido principalmente ao clima adverso ou à predação que essas pupas podem enfrentar em campo.

A liberação de pupas um dia antes da emergência dos adultos se mostrou muitas vezes inviável devido aos predadores (formigas, crisopídeos, joaninhas, entre outros) que acabaram devorando muitas pupas liberadas antes dos parasitoides terem qualquer chance de emergir (Cave, 2000). Diferentemente de muitos países europeus onde a estratégia de liberação de pupas de parasitoides é utilizada com maior facilidade, o Brasil tem uma fauna enorme, o que inclui muitas espécies de predadores. Esses predadores podem facilmente se alimentar dos parasitoides de ovos liberados antes da emergência dos adultos, atingindo 100% de predação poucas horas após a liberação (Parra, 2014).

Além da predação, os parasitoides liberados precisam também sobreviver ao clima ao qual eles serão expostos, que pode ser adverso e constituir um fator de mortalidade importante. Dentre os fatores abióticos de mortalidade de insetos, a temperatura merece destaque (Frazer; Mcgregor, 1992), pois afeta diretamente a sobrevivência dos artrópodes (Denis et al., 2011). Sendo assim, esse fator de mortalidade é ainda mais importante para os parasitoides de ovos, quando esses são liberados como pupas no campo, incapazes de procurar abrigo para se proteger de temperaturas adversas.

Quando pupas de *T. podisi* foram liberadas em lavouras de soja no período vegetativo, antes do completo desenvolvimento das plantas e do sombreamento do solo nas entre linhas, aquelas pupas que ficaram expostas diretamente ao sol nas entrelinhas tiveram emergência dos adultos significativamente reduzida, quando comparado às pupas que ficaram sombreadas embaixo das plantas (Braz et al., 2021). Apesar de *T. podisi* ser geralmente liberado no período reprodutivo da lavoura, quando o sombreamento das entre-linhas é completo, o que reduz a exposição das pupas liberadas a radiação solar direta, isso não ocorre com *T. pretiosum*. Esse parasitoide de ovos de lepidópteros é geralmente liberado no início do desenvolvimento da lavoura de soja, quando a cultura recebe as primeiras mariposas que originarão as lagartas.

Independentemente do fato de que, provavelmente, a mortalidade por temperatura deva ser maior em liberações de *T. pretiosum* no período vegetativo, quando comparado a liberações de *T. podisi* ou mesmo *T. pretiosum* no período reprodutivo, é importante que durante o processo de criação em laboratório, o controle ambiental desse processo seja bem realizado. Para isso, as condições favoráveis para a criação dos insetos devem ser rigorosamente seguidas, como controle de temperatura e fotoperíodo. Isso permite que o dia provável da emergência seja estimado com precisão e assim a liberação possa ocorrer poucas horas antes da emergência dos adultos desses parasitoides. Além disso, a liberação de adultos previamente alimentados pode ser uma alternativa, embora dependa ainda de pesquisa e de mecanização para viabilizar esse processo em grandes áreas.

Além desses cuidados, é igualmente importante que o parasitoide seja liberado no momento em que a fase vulnerável do ovo hospedeiro esteja disponível em campo. Portanto, um dos grandes desafios para sucesso do manejo de pragas com o uso de parasitoides de ovos é a liberação do parasitoide no momento certo. Nesse contexto, é importante destacar que os adultos de *T. pretiosum* tem vida útil curta, entre quatro e cinco dias, quando realizam 80% de seu parasitismo (Bueno, 2008) e apresentam a maior capacidade de parasitismo em ovos do hospedeiro de até 24 horas de desenvolvimento embrionário, tendo parasitismo desprezível em ovos de 24 até 48 horas e zero parasitismo em ovos de 48 até 72 horas (Queiroz et al., 2020). Portanto, a liberação à campo, a fim de coincidir adultos de *T. pretiosum* com 4 a 5 dias de vida com os ovos hospedeiros de até um dia de idade é essencial para o sucesso do manejo de lepidópteros usando esse parasitoide.

Assim como para *T. pretiosum*, para o sucesso de liberações de *T. podisi*, é essencial que a liberação dos parasitoides ocorra no melhor momento, visando coincidir em campo a fase mais suscetível de desenvolvimento embrionário do ovo hospedeiro com os adultos ativos do parasitoide. Entretanto, adultos de *T. podisi* têm vida útil um pouco mais longa que *T. pretiosum*, atingindo 80% de seu parasitismo apenas ao redor de 14 a 16 dias (Silva et al., 2018). Além disso, *T. podisi* apresentou a mesma

capacidade de parasitismo em ovos de *E. heros* de 24, 48, 72 e 96 horas de desenvolvimento embrionário (Queiroz et al., 2019). Portanto, para o sucesso de *T. podisi* é necessária uma estratégia de liberação que permita coincidir os parasitoides adultos com 14 a 16 dias de vida com ovos hospedeiros de até quatro dias de idade em campo. Nesse contexto, para ambas as espécies de parasitoides, pode-se perceber que o monitoramento rigoroso das pragas alvos em campo, além de uma distância menor entre a biofábrica e a área de liberação, entre outros fatores destacados nesse capítulo, são essenciais para o sucesso de programas de controle biológico aumentativo usando esses parasitoides de ovos.

Uma outra exigência que precisa ser observada na liberação de parasitoides em campo é o número de pontos mínimos por unidade de área em que o parasitoide precisa ser liberado. Isso depende da capacidade de dispersão de cada espécie de parasitoide utilizada e da cultura em que o mesmo está sendo liberado, que pode oferecer mais ou menos obstáculos para sua dispersão. Baseando-se no modelo de Dobzhanski e Wright (1943), o número de pontos de liberação de *T. pretiosum* na cultura de soja, determinado por meio do raio efetivo de dispersão, é de 117 pontos por hectare, para garantir uma distribuição homogênea na área tratada após 24 horas da liberação (Bueno et al., 2012).

O número de pontos de liberação é essencial para o sucesso de controle, principalmente para uma espécie de parasitoide de ovos que tem vida útil curta, com parasitismo concentrado nos primeiros dias de vida adulta. Embora a recomendação de Bueno et al. (2012) seja de 117 pontos por hectare, a especificação de referência foi publicada com apenas 50 pontos por hectare. Apesar dessas diferenças, a pulverização de pupas avulsas sem o encapsulamento das mesmas permite uma distribuição homogênea dessas pupas em campo, que provavelmente elimina a maioria dos problemas com dispersão e distribuição homogêneas dos adultos em campo.

Com relação a *T. podisi*, não há trabalhos publicados até o momento que avaliem o número de pontos de liberação baseados no mesmo modelo de Dobzhanski e Wright (1943). Na especificação de referência de *T. podisi*, a recomendação realizada é a distribuição em pelo menos 32 pontos por hectare, valor próximo da dispersão encontrada por Pomari-Fernandes et al. (2018) para *Telenomus remus* em soja, ambos parasitoides do mesmo gênero. Assim como para *T. pretiosum*, a liberação de *T. podisi* mais utilizada em campo tem sido a liberação de pupas avulsas, que são espalhadas homogêneas na lavoura, facilitando ainda mais a dispersão dos parasitoides em campo.

Independentemente da liberação de pupas avulsas ou encapsuladas, é importante considerar que *T. pretiosum*, assim como *T. podisi*, são insetos pequenos que têm sua dispersão fortemente influenciada pela direção do vento. O vento já foi relatado na literatura como um fator importante para outros parasitoides da ordem Hymenoptera, devido ao pequeno tamanho das vespas que têm pouco controle de voo em condições de muito vento (Corbett; Rosenheim 1996). Portanto, o método de liberação deve ser preferencialmente para uma distribuição perimétrica dos insetos liberados considerando a direção do vento predominante na área, sempre que isso for possível (Pomari-Fernandes et al., 2018).

iii) densidade da praga e condições climáticas no momento da liberação: Condições climáticas, principalmente chuva e temperaturas extremas podem impactar negativamente o sucesso do controle biológico com parasitoides de ovos. Por isso recomenda-se a liberação dos parasitoides de ovos nos

horários mais amenos do dia, com clima mais favorável à emergência e à sobrevivência dos adultos das pupas liberadas. Nesse cenário, recomenda-se a liberação de *T. pretiosum* preferencialmente nos primeiros horários da manhã. A liberação de *T. podisi* pode ser feita também nos primeiros horários da manhã ou alternativamente também no final da tarde, visto que esse parasitoide tem seu parasitismo menos impactado pela ausência de luz (Grande et al., 2021).

Com relação a densidade da praga, é importante relembrar que o parasitoide não controla a praga em si, mas os ovos que darão origem às pragas. Por isso a liberação precisa ser feita no momento que haja ovos disponíveis para o parasitismo. Isso é um desafio considerando que na soja a amostragem de pragas com o pano de batida é a alternativa mais recomendada pela pesquisa. O uso de armadilhas para captura de adultos pode ser uma opção para determinar o momento ideal para liberar os parasitoides. Entretanto, a correlação de adultos capturados nas armadilhas com a presença de ovos no campo ainda precisa ser estabelecida e publicada na literatura científica.

iv) interações com outros bioinsumos ou químicos sintéticos também utilizados na lavoura:

Agentes de controle biológico, incluindo os parasitoides, podem ser impactados negativamente quando agrotóxicos não seletivos são usados na lavoura (Torres; Bueno, 2018) ou mesmo quando outros bioinsumos são utilizados. Esse assunto será abordado em detalhes no capítulo 27. Em geral, é possível afirmar que o sucesso do controle biológico de pragas depende do uso racional de inseticidas dentro do conceito de Manejo Integrado de Pragas (MIP). Essa dependência é mútua para ambos os lados. O sucesso do controle biológico depende do MIP e o sucesso do MIP depende do controle biológico em campo.

Considerações finais

O uso de controle biológico aumentativo, incluindo o uso de parasitoides, já é uma realidade na sojicultura com tendências de expansão ainda maiores no Brasil e no mundo. É um caminho sem volta para o cultivo da soja na busca da redução do uso de agrotóxicos sintéticos e menor impacto ambiental. Exigências ambientais impostas pelos mercados consumidores crescem a cada dia, com proibições de uso de alguns inseticidas e limites de resíduos cada vez mais rigorosos. O mercado está ficando mais exigente e o uso de bioinsumos é uma das alternativas para ajudar o sojicultor a atender essa demanda.

O mercado de bioinsumos cresce com novos produtos sendo registrados a cada dia. Nesse cenário, é possível e desejável que outras espécies de parasitoides de ovos venham a ser registradas em futuro próximo para uso aplicado na cultura da soja. Parasitoides como *Tetrastichus howardi* estão em fase final de registro e outras espécies como *Hexacladia smithii* que parasita adultos de pentatomídeos, *T. remus* que parasita principalmente ovos de *Spodoptera* spp., entre outros hospedeiros, poderão em breve se juntar a esse arsenal de opções biológicas para o manejo de pragas na soja. Para que isso seja possível, é necessário ainda pesquisas, o que precisa ser incentivada por órgãos governamentais e privados em busca de novas alternativas sustentáveis para uma sojicultura de baixo impacto.

Vale a pena também destacar a importância do controle de qualidade do bioinsumo utilizado, que é um ponto crucial para o sucesso dessa tecnologia e está abordados em detalhes no capítulo 28. O controle de qualidade em biofábricas deve ser rigoroso, a fim de se obter bioinsumos de qualidade que

garantam a eficiência desejada. Igualmente, é muito importante a adoção em campo das recomendações sobre a adequada tecnologia de aplicação e liberação a ser empregada pelos produtores, e uma maior familiarização desses com os requerimentos necessários descritos nesse capítulo, para assegurar boa eficiência dos parasitoides em campo. Para isso, é necessário reforçar a transferência de tecnologia para garantir maior adoção do controle biológico pelos produtores como um método eficiente de controle das pragas principais que atacam a cultura da soja no Brasil.

Referências

- BAI, B.; LUCK, R. R.; FORSTER, L.; STEPHENS, B.; JANSSEN, J. A. M. The effect of host size on quality attributes of the egg parasitoid, *Trichogramma pretiosum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, v. 64, p. 37-48, 1992. DOI: 10.1111/j.1570-7458.1992.tb01592.x.
- BAITHA, A.; JALALIS, K.; RABINDRAR, J.; VENKATESAN, T.; RAO, N. S. Parasitizing efficiency of the pupal parasitoid, *Tetrastichus howardi* (Olli) (Hymenoptera: Eulophidae) on *Chilo partellus* (Swinhoe) at different exposure periods. *Journal of Biological Control*, v. 18, n.1, p. 65-68, 2004. DOI: 10.18311/jbc/2004/4056.
- BARBOSA, M. S. Seletividade de inseticidas a *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) e seu parasitismo em pupa de *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae). Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados, MS. 123p. 2022.
- BOTELHO, P. S. M. Eficiência de *Trichogramma* em campo. In: PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Eds.). *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. Piracicaba: FEALQ, 1997. p. 303-318.
- BRAZ, É. C.; BUENO, A. F.; COLOMBO, F. C.; QUEIROZ, A. P. Temperature impact on *Telenomus podisi* emergence in field releases of unprotected and encapsulated parasitoid pupae. *Neotropical Entomology*, v. 50, p. 462-469, 2021. DOI: 10.1007/s13744-021-00857-3.
- BUENO, A. F.; BRAZ, E. C.; FAVETTI, B. M.; FRANÇA-NETO, J. B.; SILVA, G. V. Release of the egg parasitoid *Telenomus podisi* to manage the Neotropical Brown Stink Bug, *Euschistus heros*, in soybean production. *Crop Protection*, v. 137, p. 1-7, 2020. DOI: 10.1016/j.cropro.2020.105310.
- BUENO, A. F.; PANIZZI, A. R.; HUNT, T. E.; DOURADO, P. M.; PITTA, R. M.; GONÇALVES, J. Challenges for adoption of integrated pest management (IPM): the soybean example. *Neotropical Entomology*, v. 50, p. 5-20, 2021. DOI:10.1007/s13744-020-00792-9.
- BUENO, R. C. F.; PARRA, J. R.; BUENO, A. F. *Trichogramma pretiosum* parasitism and dispersal capacity: a basis for developing biological control programs for soybean caterpillars. *Bulletin of Entomological Research*, v. 102, p. 1-8, 2012. DOI: 10.1017/S0007485311000289.
- BUENO, R. C. O. F. Bases biológicas para utilização de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para controle de *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) e *Anticarsia gemmatilis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) em soja. 2008. 119 p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, SP.
- BUENO, R. C. O. F.; BUENO, A. F.; PARRA, J. R. P.; VIEIRA, S. S.; OLIVEIRA, L. J. Características biológicas e capacidade de parasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) em ovos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 54, p. 322-327, 2010. DOI: 10.1590/S0085-56262010000200016.
- BUENO, R. C. O. F.; PARRA, J. R. P.; BUENO, A. F. Biological characteristics and thermal requirements of a Brazilian strain of the parasitoid *Trichogramma pretiosum* reared on eggs of *Pseudoplusia includens* and *Anticarsia gemmatilis*. *Biological Control*, v. 51, n. 3, p. 355-361, 2009. DOI:10.1016/j.biocontrol.2009.07.006
- CARVALHO, E. S. M. *Dichelops melacanthus* (Dallas, 1851) (Heteroptera: Pentatomidae) no sistema plantio direto no sul de Mato Grosso do Sul: flutuação populacional, hospedeiros e parasitismo. 2007. 60 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS.
- CAVE, R. D. Biology, ecology and use in pest management of *Telenomus remus*. *Biocontrol News and Information*, v. 21, p. 21-26, 2000.
- CONTE, O.; OLIVEIRA, F. T.; HARGER, N.; CORRÊA-FERREIRA, B. S. Resultados do Manejo Integrado de Pragas da Soja na safra 2013/14 no Paraná. Londrina: Embrapa Soja, 2014. 56 p. (Embrapa Soja. Documentos, 356).
- CORBETT, A.; ROSENHEIM, J. A. Quantifying movement of a minute parasitoid, *Anagrus epos* (Hymenoptera: Mymaridae), using fluorescent dust marking and recapture. *Biological Control*, v. 6, p. 35-44, 1996. DOI: 10.1006/bcon.1996.0005.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S. *Trissolcus basalus* para o controle de percevejos da soja. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. *Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores*. 1.ed. Barueri, SP: Manole, 2002. p. 449-476.

- CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. Seasonal occurrence and host spectrum of egg parasitoids associated with soybean stink bugs. **Biological Control**, v. 5, p. 196-202, 1995. DOI: 10.1006/bcon.1995.1024.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S.; NUNES, M. C.; UGUCCIONI, L. D. Ocorrência do parasitoid *Hexacladia smithii* Ashmead em adultos de *Euschistus heros* (F.) no Brasil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 27, p. 495-498, 1998. DOI: 10.1590/S0301-8059199800300022.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S.; ZAMATARO, C. E. O. Capacidade reprodutiva e longevidade dos parasitoides de ovos *Trissolcus basalis* (Wollaston) e *Trissolcus mitsukurii* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae). **Revista Brasileira de Biologia**, v. 49, 1989.
- COSTA, V. A. C.; BERTI FILHO, E.; SATO, M. E. Parasitoides e predadores no controle de pragas. In: PINTO, A. S.; NAVA, D. E.; ROSSI, M. M.; MALERBO-SOUZA, D. T. (Ed.). **Controle biológico de pragas na prática**. Piracicaba: Prol, 2006. p. 25-34.
- CRUZ, I.; REDOAN, A. C.; SILVA, R. B.; FIGUEIREDO, M. L. C.; PENTEADO-DIAS, A. M. New record of *Tetrastichus howardi* (Olliff) as a parasitoid of *Diatraea saccharalis* (Fabr.) on maize. **Scientia Agrícola**, v.68, n.2, p.252-254, 2011.
- DENIS, D.; PIERRE, J. S.; van BAAREN, J.; van ALPHEN, J. J. How temperature and habitat quality affect parasitoid lifetime reproductive success—a simulation study. **Ecological Modelling**, v. 222; p. 1604-1613, 2011. DOI: 10.1016/j.ecolmodel.2011.02.023.
- DOBZHANSKY, T.; WRIGHT, S. Genetics of natural populations x Dispersion rates in *Drosophila pseudoobscura*. **Genetics**, v. 28, p. 304-340, 1943.
- FOERSTER, L. A.; AVANCI, M. R. F. Egg parasitoids of *Anticarsia gemmatilis* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae) in soybeans. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 28, p. 545-548, 1999. DOI: 10.1590/S0301-8059199900300025.
- FOERSTER, L. A.; QUEIROZ, J. M. Incidência natural de parasitismo em ovos de pentatomídeos da soja no centro-sul do Paraná. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 19, p. 221-232, 1990. DOI: 10.37486/0301-8059.v19i1.651.
- FRAZER, B. D.; MCGREGOR, R. R. Temperature-dependent survival and hatching rate of eggs of seven species of Coccinellidae. **The Canadian Entomologist**, v. 124, p. 305-312, 1992. DOI: 10.4039/Ent124305-2.
- GIL, O. J. A. Aspectos biológicos de *Microcharops anticarsiae* (Hymenoptera: Ichneumonidae) parasitando *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Erebidae). 2016. 64 p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Unesp, Jaboticabal.
- GONZÁLEZ, J. F. A.; OCA, F. N. M.; RAVELO, H. G. *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae): nuevo parásito pupal de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) en Cuba. **Centro Agrícola**, año 30, no.2, abril-junio, p.93, 2003.
- GRANDE, M. L. M.; QUEIROZ, A. P.; GONÇALVES, J.; HAYASHIDA, R.; VENTURA, M. U.; BUENO, A. F. Impact of environmental variables on parasitism and emergence of *Trichogramma pretiosum*, *Telenomus remus* and *Telenomus podisi*. **Neotropical Entomology**, v. 50, p. 1-10, 2021. DOI: 10.1007/s13744-021-00874-2.
- HASSAN, S. A. Strategies to select *Trichogramma pretiosum* species for use in biological control. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S. A. **Biological control with other egg parasitoids**. Wallingford, UK: CAB International, 1994. p. 55-73.
- HOHMANN, C. L.; SILVA, S. M. T.; SANTOS, W. J. Lista preliminar de Trichogrammatidae encontrados no Paraná. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 18, p. 203-206, 1989. DOI: 10.37486/0301-8059.v18i1.583.
- KING, E. G.; BULL, D. L.; BOUSE, L. F.; PHILIPS, J. R. Introduction: biological control of *Heliothis* spp. in cotton by augmentative releases of *Trichogramma*. **Southwestern Entomologist**, v. 8, p. 1-10, 1985.
- LA SALLE, J.; POLASZEK, A. Afrotropical species of the *Tetrastichus howardi* species group (Hymenoptera: Eulophidae). **African Entomology**, v. 15, p. 45-56, 2007. DOI: 10.4001/1021-3589-15.1.45.
- LOPES, J. R. S. Estudos bioetológicos de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hym.: Trichogrammatidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lep.: Pyralidae). 1988. 141 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- LUCCHETTA, J. T. Parasitismo e desenvolvimento de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em lagartas e pupas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). 2016. 57 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) - Faculdades de Ciências Biológicas, Universidade Federal da Grande Dourados, MS.
- MAPA. **Agrofit**: consulta aberta. 2022. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agro_fit_cons>. Acesso em: 10 fev. 2022.
- MORAES, R. R.; LOECK, A. E.; BELARMINO, L. C. Inimigos naturais de *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) e de *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae) em soja no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 26, p. 57-64, 1991.
- NUNES, M. C. Efeito do parasitismo de *Hexacladia smithii* Ashmead (Hymenoptera: Encyrtidae) na capacidade reprodutiva e no dano de *Euschistus heros* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae) causado a soja. 2000. 95 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

- PACHECO, D. J. P.; CORRÊA-FERREIRA, B. S. Parasitismo de *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae) em populações de percevejos pragas da soja. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v. 29, p. 295-302, 2000. DOI: 10.1590/S0301-80592000000200011.
- PANIZZI, A. R.; CORRÊA-FERREIRA, B. S. Dynamics in the insect fauna adaptation to soybean in the tropics. *Trends in Entomology*, v. 1, p. 71-88, 1997.
- PANIZZI, A. R.; LUCINI, T. What happened to *Nezara viridula* (L.) in the Americas? Possible reasons to explain populations decline. *Neotropical Entomology*, v. 45, p. 619-628, 2016. DOI: 10.1007/s13744-016-0446-2.
- PARRA, J. R. P. Biological control in Brazil: an overview. *Scientia Agricola*, v. 71, p. 345-355, 2014. DOI: 10.1590/0103-9016-2014-0167.
- PARRA, J. R. P. Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*. In: PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Eds.). *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. Piracicaba: FEALQ, 1997. p. 121-150.
- PARRA, J. R. P.; PINTO, A. S.; NAVA, D. E.; OLIVEIRA, R. C.; DINIZ, A. J. F. *Controle biológico com parasitoides e predadores na agricultura brasileira*. 1ed. Piracicaba: FEALQ, 2021. v. 1, 592 p.
- PARRA, J. R. P.; COELHO JR, A. Applied biological control in Brazil: from laboratory assays to field application. *Journal of Insect Science*, v. 19, p.1-6, 2019. DOI: 10.1093/jisesa/iey112.
- PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; SILVEIRA NETO, S. Biological control of pests through egg parasitoids of the genera *Trichogramma* and/or *Trichogrammatoidea*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 82, p. 153-160, 1987. DOI: 10.1590/S0074-02761987000700027.
- PEREIRA, F. F.; PASTORI, P. L.; KASSAB, S. O.; TORRES, J. B.; CARDOSO, C. R. G.; FERNANDES, W. C.; OLIVEIRA, H. N.; ZANUNCIO, J. C. Uso de eulófeidos no controle biológico de pragas. In: PARRA, J. R. P.; PINTO, A. S.; NAVA, D. E.; OLIVEIRA, R. C.; DINIZ, A. J. F. (Ed.). *Controle biológico com parasitoides e predadores na agricultura brasileira*. 1ed. Piracicaba: FEALQ, 2021. v. 1, p. 317-361.
- PINTO, A. S.; PARRA, J. R. P. Liberação de inimigos naturais. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Eds.). *Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores*. 1ed. Barueri: Manole, 2002. p. 325-342.
- PINTO, J. D. Systematics of the north american species of *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Washington, DC: Entomological Society of Washington, 1998. 287 p. (Memoirs, 22).
- PINTO, J. D.; VELTREN, R. K.; PLATNER, G. R.; OATMAN, E. R. Phenotypic plasticity and taxonomic character in *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Annals of the Entomological Society of America*, v. 82, p. 414-425, 1989. DOI: 10.1093/aesa/82.4.414.
- POMARI-FERNANDES, A.; BUENO, A. F.; DE BORTOLI, S. A.; FAVETTI, B. M. Dispersal capacity of the egg parasitoid *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) in maize and soybean crops. *Biological Control*, v. 126, p. 158-68, 2018. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2018.08.009.
- POWELL, J. E.; SHEPARD, M. S. Biology of Australian and United States strains of *Trissolcus basal*, a parasitoid of the green vegetable bug, *Nezara viridula*. *Australian Journal of Ecology*, v. 7, p. 181-186, 1982. DOI: 10.1111/j.1442-9993.1982.tb01591.x.
- PRASAD, K. S.; ARUNA, A. S.; KUMAR, V.; KARIAPPA, B. K. Feasibility of mass production of *Tetrastichus howardi* (Ollii), a parasitoid of leaf roller (*Diaphania pulverulentalis*), on *Musca domestica* (L.). *Indian Journal of Sericulture*, v. 46, n. 1, p. 89-91, 2007.
- QUEIROZ, A. P.; COSTA, C. O.; FAVETTI, B. M.; SILVA, G. V.; BUENO, A. F. Effects of parasitoid and host age on the parasitism of *Trichogramma pretiosum* on eggs of *Anticarsia gemmatalis*. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 64, n. 2, p. 1-5, 2020. DOI: 10.1590/1806-9665-rbent-2019-105.
- QUEIROZ, A. P.; FAVETTI, B. M.; HAYASHIDA, R.; GRANDE, M. L. M.; NEIVA, M. M.; PANIZZI, A. R.; BUENO, A. F. Effect of the ages of parasitoid and host eggs on *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platygasteridae) parasitism. *Neotropical Entomology*, v. 48, p. 974-982, 2019. DOI: 10.1007/s13744-019-00724-2.
- SILVA, G. V.; BUENO, A. F.; NEVES, P. M. O. J.; FAVETTI, B. M. Biological characteristics and parasitism capacity of *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platygasteridae) on eggs of *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae). *Journal of Agricultural Science*, v. 10, n. 8, p. 210-220, 2018. DOI: 10.5539/jas.v10n8p210.
- SILVA-TORRES, C. S. A.; PONTES, I. V. A. F.; TORRES, J. B.; BARROS, R. New records of natural enemies of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) in Pernambuco, Brazil. *Neotropical Entomology*, v. 39, n. 5, p. 835-838, 2010. DOI: 10.1590/S1519-566X2010000500028.
- SMITH, S. M.; HUBBES, M.; CARROW, J. R. Factors affecting inundative releases of *Trichogramma* Ril. against the spruce budworm. *Journal of Applied Entomology*, v. 101, p. 29-39, 1986. DOI: 10.1111/j.1439-0418.1986.tb00830.x.
- TORRES, J. B.; BUENO, A. F. Conservation biological control using selective insecticides: a valuable tool for IPM. *Biological Control*, v. 126, p. 53-64, 2018. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2018.07.012.
- TURCHEN, L. M.; GOLIN, V.; FAVETTI, B. M.; BUTNARIU, A. R.; COSTA, V. A. Natural parasitism of *Hexacladia smithii* Ashmead (Hymenoptera: Encyrtidae) on *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae): new record from Mato Grosso State, Brazil. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 82, p. 1-3, 2015. DOI: 10.1590/1808-1657000852013.
- VARGAS, E. L.; PEREIRA, F. F.; TAVARES, M. T.; PASTORI, P. L. Record of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing *Diatraea* sp. (Lepidoptera: Crambidae) in sugarcane crop in Brazil. *Entomotropica*, v. 26, p. 143-146, 2011.

Manejo de pragas com artrópodes

Orcial Ceolin Bortolotto

Adriano Thibes Hoshino

Juliano de Bastos Pazini

Geovanny Barroso

Fernando Teruhiko Hata

Introdução

Os predadores constituem um importante grupo dentro do controle biológico natural (Fontes et al., 2020), atuando de forma gradativa e silenciosa, no entanto, com importante contribuição na redução populacional de pragas. Na cultura da soja, há uma diversidade de predadores que ocorrem naturalmente no campo. Dentre as principais espécies encontradas nas lavouras do Brasil, pode-se mencionar: *Orius* sp. (Hemiptera: Anthocoridae), *Geocoris* sp. (Hemiptera: Geocoridae), joaninhas (Coleoptera: Coccinellidae), carabídeos (Coleoptera: Carabidae), ácaros predadores (Acari: Phytoseiidae) e aranhas.

A abundância e diversidade dependem da biodiversidade vegetal (em escala local e regional) e do histórico da área (Altieri, 1999; Gontijo, 2019). Interessantemente, esses predadores apresentam estratégias de sobrevivência no período da entressafra ou de escassez de presas, conforme será discutido no capítulo. Desse modo, é importante desenvolver estratégias que auxiliem na sua atuação como supressor natural de pragas da soja (González et al., 2020; Hoshino, 2010), contribuindo com a redução da aplicação de inseticidas. Adicionalmente, o manejo da lavoura com inseticidas seletivos, conforme discutido em detalhes no capítulo 27, irá fortalecer a sobrevivência e ação desses predadores, contribuindo com uma produção ambientalmente sustentável e economicamente viável.

Estratégias conservacionistas

Preservação de áreas de fragmento de mata nativa no entorno das lavouras

A expansão dos cultivos agrícolas ocorre em detrimento da vegetação natural, resultando na simplificação do agroecossistema com conseqüente redução no controle biológico de pragas (Rusch et al., 2016). Deste modo, é fundamental direcionar esforços para conservação dos fragmentos florestais nativos nos agroecossistemas, buscando contribuir para a manutenção e incremento de muitos insetos predadores, que podem a partir dos remanescentes florestais colonizar e os campos de cultivo (González et al., 2016). Essa premissa tem sido observada em alguns estudos no Brasil (Figura 1).

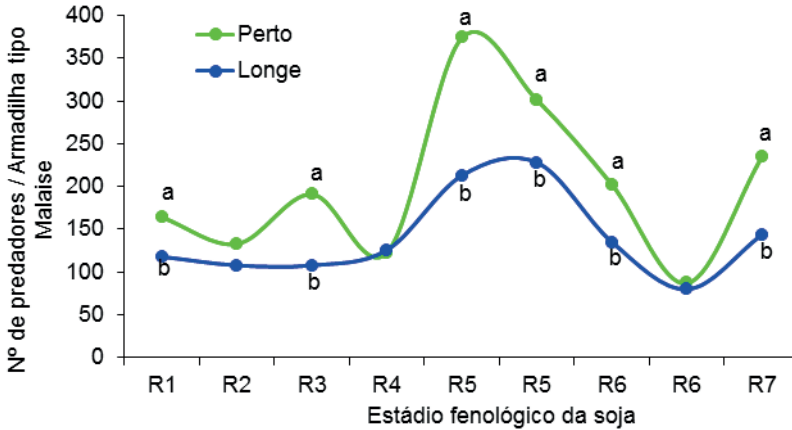


Figura 1. Flutuação populacional de predadores em duas distâncias (perto = 25 m; longe = 525 m) de um fragmento florestal adjacente a uma lavoura de soja. Ibiaporã, Paraná, 2010 (Hoshino, 2010).

Diversos estudos têm demonstrado que áreas cultivadas com soja, em locais próximos a fragmentos florestais, tem maior riqueza de espécies de ácaros predadores da família Phytoseiidae (Rezende et al., 2014), bem como maior abundância de aranhas e vários grupos de insetos predadores (González et al., 2020; Hoshino, 2010) (Figura 2). A maior ocorrência de artrópodes predadores nestes locais tem resultado em menor herbivoria e maior número de vagens cheias, com consequente incremento de produtividade (González et al., 2020).

Um grupo que pode auxiliar no controle de pragas da soja são os marimbondos, reconhecidamente importantes como predadores de lagartas em cultivos agrícolas (Southon et al., 2019). Estes insetos estão fortemente associados às plantas arbóreas presentes nos fragmentos florestais (Souza et al., 2014), que servem de local para a nidificação e desenvolvimento da prole. Devido ao seu comportamento social e constante regresso ao ninho, o forrageamento dos marimbondos sobre os cultivos agrícolas é limitado a algumas centenas de metros (Prezoto; Gobbi, 2005). Tal fato justifica a maior abundância de vespas em cultivos de soja nos locais próximos aos fragmentos florestais, durante todo o ciclo da cultura (Figura 2).

A importância dos fragmentos florestais também é verificada para os dolícopódídeos. Estas moscas estão entre os predadores mais abundantes em cultivos de soja, ocorrendo em maior quantidade nas proximidades de fragmentos florestais (Hoshino, 2010). As moscas adultas são predadoras de pequenos insetos com tegumento mole, que demonstram preferência por ambientes sombreados e com solos mais úmidos (Cauwer et al., 2006), enquanto maioria das larvas são predadoras ou necrófagas que habitam o solo (Bickel, 2009), sendo favorecidas pela maior estabilidade, estruturação e cobertura de serapilheira presentes nos ambientes florestais (Pollet; Grootaert, 1996).

Em um estudo envolvendo cultivos de soja adjacentes à fragmentos florestais, quando diferenças de ocorrência foram constatadas, verificou-se maior abundância de besouros estafilínídeos e percevejos reduvídeos nos locais próximos aos fragmentos florestais, indicando um possível efeito benéfico dos fragmentos florestais sobre estes insetos (Hoshino, 2010) (Figura 2).

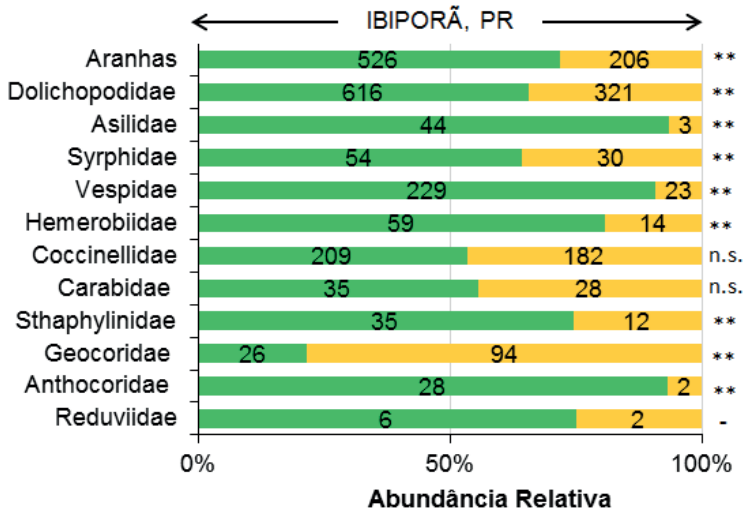


Figura 2. Abundância relativa (%) de predadores de pragas da soja em duas distâncias [perto (cor verde) = 25 m; longe (cor amarela) = 525 m] de um fragmento florestal adjacente a uma lavoura de soja. Ibiporã, Paraná, 2010 (Hoshino, 2010).

Uma característica dos fragmentos florestais remanescentes de mata atlântica é a heterogeneidade vegetal que possuem (Murray-Smith et al., 2008). Além disso, é comum a interface entre esses fragmentos e cultivos agrícolas abrigarem uma variedade de plantas herbáceas nativas, aumentando ainda mais a diversidade vegetal. O resultado dessa diversidade dentro do agroecossistema é uma oferta de pólen e néctar mais acessível aos insetos e em diferentes momentos ao longo do tempo, contrastando com os monocultivos semeados em mesma época, no qual a oferta do recurso ocorre simultaneamente por um curto período de tempo, podendo ainda ser de difícil acesso, quando a planta cultivada (ex: soja) possui flores cleistógamas. Essa suplementação alimentar diminui a predação intraguilddia, o que favorece a coexistência de diversos predadores no ambiente de cultivo (Snyder, 2019).

Os percevejos *Orius* sp. e *Geocoris* sp. são conhecidos por serem predadores generalistas de pequenos insetos, tendo preferência por consumir tripses (Bueno et al., 2012). Em cultivos de soja, uma maior ocorrência desses percevejos tem sido verificada em locais próximos a fragmentos florestais (González et al., 2020). Esse fato pode estar relacionado a oferta de pólen e néctar, ou até mesmo, pela presença de presas alternativas presentes nos fragmentos florestais, mantendo as populações dos percevejos nas proximidades.

Pelo que foi exposto acima, fica evidente que os fragmentos florestais nativos são um importante componente dos agroecossistemas, contribuindo com a manutenção de diversos predadores importantes no controle de várias pragas agrícolas. Assim, os fragmentos florestais nativos não devem ser tratados apenas como locais para a preservação da biodiversidade, mas como fontes de serviços ecossistêmicos que beneficiam os sistemas agrícolas.

Manipulação da biodiversidade de plantas

Ecologicamente, a biodiversidade de plantas pode ser dividida em duas partes: a biodiversidade associada e a biodiversidade planejada (Altieri, 1999). Dentro da biodiversidade associada, são muito importantes as plantas daninhas que podem estar presentes no entorno e/ou interior da lavoura. Essas plantas, embora sejam vistas como competidoras por sol, luz e água da lavoura comercial, também podem exercer importante função ecológica. De forma similar, o cultivo de adubos verdes (em sucessão ou rotação de culturas) pode compor a biodiversidade planejada, beneficiando o agroecossistema.

No Brasil, o sistema produtivo de soja tem demandado maior diversificação de plantas (consórcio) e a rotação de culturas. Nesse contexto, os adubos verdes apresentam vantagens a médio/longo prazo, melhorando a qualidade do solo e, conseqüentemente, a produtividade dos cultivos (Debiasi et al., 2015). Nesta seção, serão discutidos o manejo de plantas daninhas e adubos verdes para o favorecimento da ocorrência de predadores da soja no Brasil.

Manejo de plantas daninhas

As plantas daninhas geralmente são preocupações para o produtor, devido a competição por água, luz e nutrientes com as plantas cultivadas. Em razão disso, o seu manejo deve ser criterioso e planejado. No entanto, a presença de plantas daninhas em lavouras com terraço (Figura 3), pode disponibilizar abrigo e alimento alternativo aos predadores de pragas da soja (Figura 4).



Foto: Ayres de Oliveira Menezes Junior

Figura 3. Terraço com a preservação de plantas daninhas em lavoura de soja. Londrina, 2009.

Um dos principais predadores no sistema produtivo da soja e que podem ser beneficiados pela presença de plantas daninhas são os carabídeos (Martins; Cividanes, 2020). Por exemplo, na época de entressafra da sucessão trigo/soja, os predadores carabídeos podem buscar locais de refúgio, onde obtêm abrigo (condições de temperatura e umidade ideais) e alimento alternativo para sua sobrevivência (Figura 5).

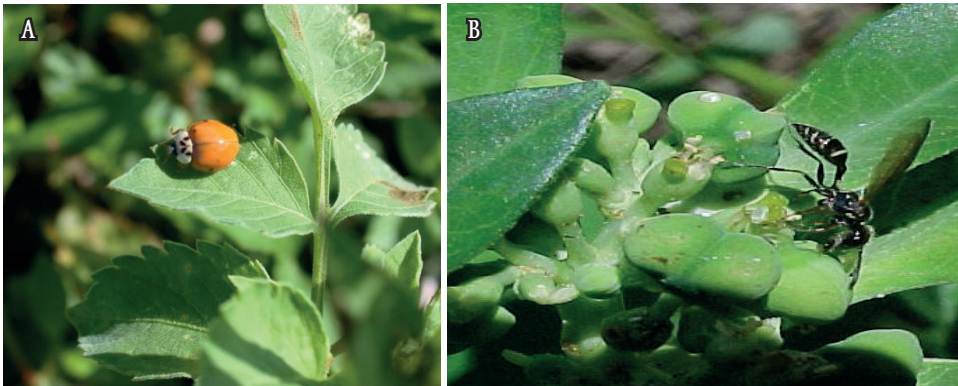


Foto: Ayres de Oliveira Menezes Junior

Figura 4. Predadores associados a plantas daninhas: A) Coccinellidae em picão-preto (*Bidens pilosa*); B) vespa predadora em leiteiro (*Sapium glandulatum*). Londrina, 2009.

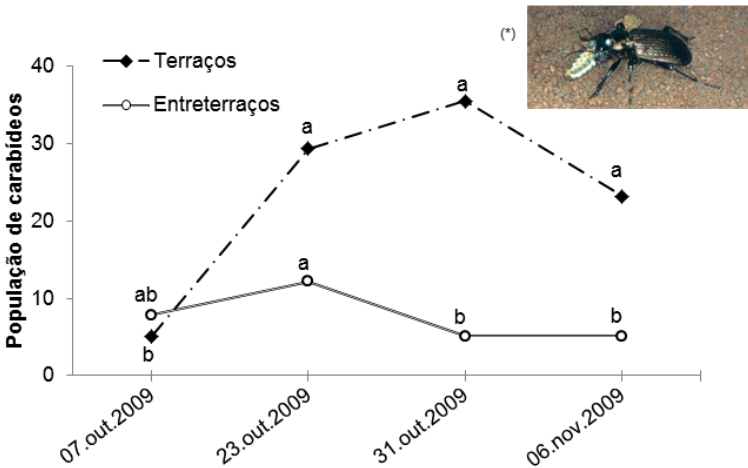


Foto: Amarrido Pasini.

Figura 5. Ocorrência de carabídeos predadores em duas condições de campo na entressafra trigo/soja. Londrina, Paraná, Brasil. Safra 2009. Fonte: Sismeiro (2012). (*) = *Calosoma granulatum* predando lagarta-da-soja.

Entre os exemplos de plantas daninhas que favorecem a ocorrência do predador, observa-se a poa-branca e a nabiça. No entanto, essa relação pode variar de acordo com as espécies de predadores e de plantas disponíveis em cada região. Uma observação importante é que o comportamento dos predadores é alterado ao longo do tempo. Por exemplo, durante a safra da soja, os exemplares da espécie *C. granulatum* ocorrem predominantemente no interior da lavoura, conforme já demonstrado por outros autores (Cividanes et al., 2010; Martins et al., 2012). Esse comportamento comprova a importância de locais de refúgio para a sobrevivência dos predadores.

De acordo com alguns estudos (Honek et al., 2007; Matta et al., 2017), algumas espécies de carabídeos podem se alimentar de sementes de plantas daninhas, além de serem predadores, reforçando assim a

importância desses locais de refúgio para a sobrevivência desses besouros. Embora os carabídeos possam ter a dieta diversificada, a sua importância agrícola é principalmente por serem predadores de lagartas (Cividanes et al., 2014). Em estudo de laboratório, Pasini (1995) observou que um único indivíduo da espécie *Casoloma granulatum* pode preda até duas lagartas grandes/dia.

Dentre outras plantas daninhas associadas à ocorrência de predadores importantes na soja, podemos destacar o picão-preto, nabiça e losna-branca, que favorecem a ocorrência do percevejo-pirata *Orius* sp., mosca-metálica Dolichopodidae e reduvídeos (Mendes et al., 2002). Esses predadores são frequentes em nas lavouras de soja do Brasil, no entanto, os estudos do impacto desses inimigos naturais em condição de campo ainda são escassos.

Cultivo de adubos verdes para o incremento de predadores

Outra possibilidade para favorecer a atuação de predadores é o cultivo de plantas que auxiliam na cobertura do solo (Gurr et al., 2017). O manejo com adubos verdes na rotação e/ou sucessão de culturas, além das melhorias físico-químicas do solo, possibilita uma vantagem para conservação desses inimigos naturais. Um maior forrageamento de predadores em adubos verdes geralmente ocorre no período reprodutivo das plantas, quando há disponibilidade de pólen e néctar que servem como fonte suplementar de alimento.

O cultivo de tremoço branco, pode favorecer a ocorrência do percevejo-pirata (*Orius* sp.) e de crisopídeos (Figura 6). Outra possibilidade para o período da safra de inverno é o cultivo de centeio, que permite incremento populacional de crisopídeos e sirfídeos, o que garante a manutenção desses predadores na área de cultivo que antecede a soja.

Os sirfídeos, são conhecidos popularmente como “moscas-das-flores”, em razão da sua afinidade em busca de recursos florais para sobrevivência do adulto. No entanto, durante a fase jovem são predadores de uma gama de presas, e embora sejam especialistas na predação de pulgões, também podem se alimentar de pequenas lagartas (primeiro e segundo instar) de lepidópteros-praga.

Complementarmente, existem outras espécies que se destacam para atratividade de predadores, como por exemplo o nabo forrageiro para atratividade de coccinélídeos (Figura 6). Essa observação indica que

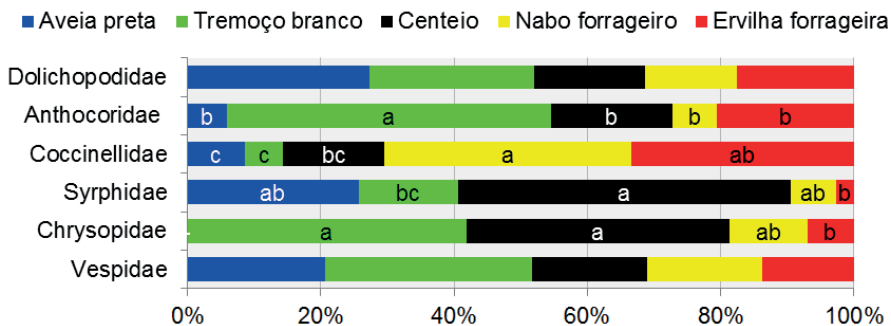


Figura 6. Abundância relativa (%) de famílias predadoras capturadas em diferentes espécies de adubos verdes de inverno. Londrina, 2011. Obs: letras diferentes na mesma barra indicam diferença estatística entre os adubos verdes.

esse adubo verde também tem grande importância no agroecossistema, visando o incremento do controle biológico de pragas. Por fim, é importante ressaltar que embora algumas plantas sejam atrativas aos predadores, isso não necessariamente garante uma redução populacional da praga (Hinds; Barbercheck, 2020). No entanto, além dos benefícios ao solo, essas plantas proporcionam um maior equilíbrio do agroecossistema, que possibilita o menor uso de inseticidas visando as pragas do cultivo.

Importância econômica dos predadores no controle biológico natural

Alguns estudos têm evidenciado a importância econômica dos predadores nas lavouras de diferentes cultivos no mundo. Por exemplo, estudos desenvolvidos na China indicam que uma única joaninha pode representar a economia de 1 centavo de dólar, e estima-se que isso pode representar uma economia de aproximadamente 300 milhões de dólares nas lavouras de algodão (Huang et al., 2018). Em estudos realizados em lavouras de algodão dos Estados Unidos, observou-se que os predadores podem representar uma economia de 254 dólares/ha no manejo de *Helicoverpa armigera* (Naranjo et al., 2019). Essa espécie, embora polífaga, tem sido registrada no Brasil ocasionando severas perdas na soja, o que demonstra a importância da preservação de predadores nas lavouras.

Na cultura da soja, estudos desenvolvidos nos Estados Unidos demonstram que os predadores representam uma economia de até 41 dólares/ha, com redução na infestação de pulgões (Naranjo et al., 2019). No Canadá, essa economia é em torno de 28 dólares/ha (Hallett et al., 2014). Quando considerado uma média global, o controle biológico conservativo apresenta resultados de economia média de 74 dólares/ha em áreas de produção (independente do cultivo) (Naranjo et al., 2019).

Especificamente em soja essa economia por práticas conservacionistas é em torno de 37 dólares/ha (Naranjo et al., 2015), em razão dos serviços de ecossistema (redução da infestação da praga e inseticidas). Esses resultados, embora em outros países e com pragas distintas, evidenciam a importância da ação dos predadores do agroecossistema sobre as pragas da soja.

Controle biológico aumentativo

Os predadores como agentes de controle biológico podem ser utilizados como um dos componentes estratégicos do Manejo Integrado de Pragas (MIP). Muitos insetos e ácaros predadores têm sido observados em cultivos de soja, mas, seu valor potencial pouco tem sido explorado, principalmente pela dificuldade de implementação de programas de controle biológico aplicado em cultivos extensivos, e pelo custo-benefício relacionado as atuais técnicas de produção e liberação.

Todavia, a crescente demanda mundial pelo uso de produtos mais sustentáveis para regulação de pragas, principalmente pelo interesse no consumo de alimentos mais saudáveis, tem repercutido na investigação, produção e o registro de inimigos naturais por biofábricas nacionais e multinacionais. Assim, surge também o interesse em programas de controle biológico aplicado com uso de predadores, sobretudo em cultivos de soja. Discutiremos aqui os principais agentes de controle biológico que possuem potencial para serem utilizados como bioinsumos e as limitações e perspectivas quanto ao seu uso.

Ácaros predadores

Dos ácaros predadores, os fitoseídeos têm recebido bastante atenção pela comunidade científica pelo seu potencial como agente de controle de ácaros fitófagos, mosca-branca e tripses (Gerson et al., 2003; McMurtry et al., 2013). Nesta família encontram-se cadastradas 2717 espécies válidas (Demite et al., 2014; Demite et al., 2021), sendo uma das mais bem estudadas entre os Acari.

Experimentos em laboratório e campo têm demonstrado que fitoseídeos podem ser utilizados como agentes de controle biológico de pragas (Zhang, 2003; McMurtry et al., 2013; Walter; Proctor, 2013). Algumas empresas de controle biológico vêm comercializando estes organismos para o controle de pragas agrícolas e vêm obtendo sucesso (Knapp et al., 2018). Dentre as espécies comercializadas no Brasil, e que podem ser aplicadas para o manejo de pragas em soja, estão os fitoseídeos: *Amblyseius tamatavensis*, *Neoseiulus californicus*, *Neoseiulus idaeus* e *Phytoseiulus macropilis*.

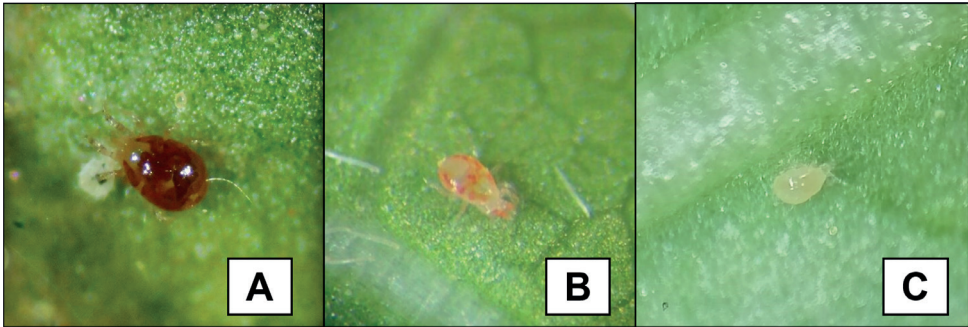
Amblyseius tamatavensis é um predador generalista do grupo III (McMurty et al., 2013; Figura 7A), ou seja, se alimenta de diferentes tipos de presas (ácaros de diferentes famílias, pequenos insetos e pólen). É uma espécie amplamente distribuída no Brasil, e recentemente conhecida por sua relevante capacidade de consumir ovos de mosca-branca (Cavalcante et al., 2015). Seu potencial para controle do biótipo B de *Bemisia tabaci* em semi-campo foi avaliado por Cavalcante et al. (2017), quando *A. tamatavensis* foi capaz de reduzir infestações em até 60-80%. Sua produção em massa pode ser facilitada pelo consumo de ácaros Astigmatina (Massaro; de Moraes, 2019).

Neoseiulus californicus é um dos fitoseídeos mais bem estudados e utilizados em programas de controle biológico de pragas (Schausberger; Walzer 2001; Greco et al. 2005; Rhodes; Liburd, 2006; van Lenteren, 2012; Knapp et al., 2018). É uma espécie cosmopolita, comercializada por empresas para o controle do ácaro-rajado e outros tetraniquídeos. Este predador ocorre naturalmente em cultivos de soja (Roggia et al., 2008; Reichert et al., 2017), e, além do ácaro-rajado também pode consumir *Mononychellus planki* e *Tetranychus ludeni* (Toldi et al., 2016). *Phytoseiulus macropilis* também é bastante utilizado para controlar o ácaro-rajado no Brasil. No entanto, seu uso é recomendado para conter altas infestações da praga, pois além da sua alta capacidade de consumo, *P. macropilis* se alimenta apenas de ácaros do gênero *Tetranychus* (McMurty et al., 2013).

O ácaro predador *Neoseiulus idaeus* também é recorrente em cultivos de soja (Rezende et al., 2012; Reichert et al., 2014; Figura 7C). Estudos realizados em laboratório demonstram seu potencial sobre *T. urticae* (Reichert et al., 2017), principalmente em regiões de clima quente e seco (Sousa Neto et al., 2019; 2021).

Os predadores *Amblydromalus limonicus* (Figura 7B) e *Neoseiulus barkeri* tem sido usado em para controlar tripses em cultivo protegido na Europa e América do Norte (van Lenteren, 2012; Knapp, et al., 2018). Estas espécies também são encontradas no Brasil, mas o potencial de populações brasileiras avaliadas até o momento é duvidoso.

Ácaros predadores das famílias Laelapidae, Parholaspididae, Macrochelidae, Ologamasidae, Parasitidae, Podocinidae, Rhodacaridae e Veigaiidae ocorrem com frequência nos ambientes edáficos (Lindquist et al., 2009). Muitos são agentes de controle de pragas de solo e poucos são comercializados para este fim. *Stratiolaelaps scimitus* é a única espécie brasileira comercializada para o controle das fases de pré-pupa e



Fotos: Geovanny Barros.

Figura 7. Ácaros predadores utilizados em programas de manejo de pragas o controle de mosca-branca, tripses e ácaro-rajado, respectivamente. (A) *Amblyseius tamatavensis*; (B) *Amblydromalus limonicus*; (C) *Neoseiulus idaeus*.

pupa de algumas espécies de tripses. Apesar da sua ampla utilização em cultivos protegidos, sua utilização em cultivos extensivos é incipiente. No entanto, os avanços científicos relacionados a produção massal de ácaros predadores associado a novas tendências de liberações de macroinvertebrados têm gerado bastante expectativa para implementação de predadores edáficos em programas de controle biológico aplicado.

Insetos predadores

Diversos grupos de insetos predadores possuem potencial para o uso como um bioinsumo na agricultura. Apesar de existir diversos estudos sobre aspectos bioecológicos e comportamentais, a criação e liberação em larga escala destes organismos ainda não é uma realidade no Brasil.

Os principais grupos de insetos predadores de pragas agrícolas pertencem às ordens Coleoptera, Diptera, Dermaptera, Hemiptera, Hymenoptera, Neuroptera e Thysanoptera. No entanto, atualmente em nosso país, a criação e liberação em escala comercial de predadores destes grupos é restrito ao *Orius insidiosus*, um Hemiptera da família Anthocoridae. Por outro lado, existe uma diversidade de insetos predadores sendo comercializado como um bioinsumo por empresas no exterior. Alguns exemplos são: joaninhas (*Adalia bipunctata*, *Cryptolaemus montrouzieri* e *Delphastus pusillus*), crisopídeo (*Chrysoperla carnea*), estafilínídeos ou potós (*Atheta coriaria*), mirídeo (*Macrolophus pygmaeus*), mosca sirfídea (*Sphaerophoria rueppellii*), cecidomídeo predador (*Feltiella acarisuga*), além do *O. insidiosus*, já comercializado no Brasil. Neste caso, vale ressaltar que o grande número de produtos à base de insetos predadores comercializados no exterior é utilizado em pequenas áreas, geralmente para o controle de pragas em casas de vegetação. Além disso, o registro de produtos biológicos em outros países parece ser mais colaborativo, devido às restrições de uso de moléculas químicas de alta periculosidade.

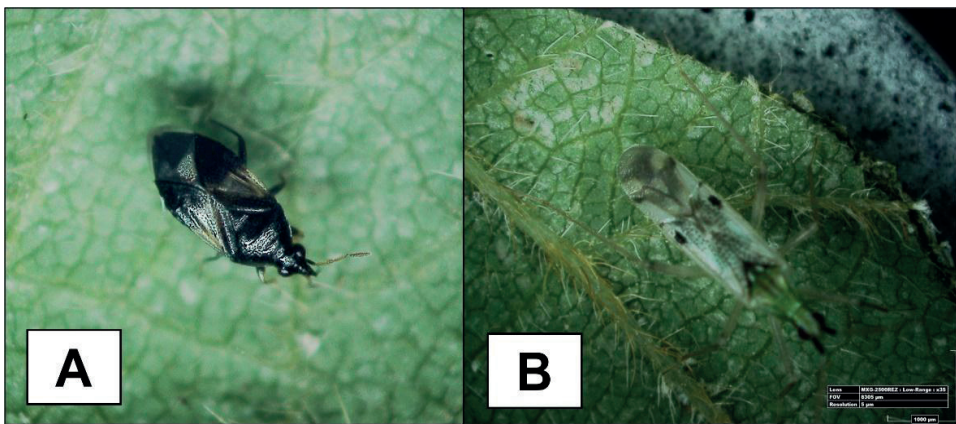
Dentre os mais conhecidos dos insetos predadores, os coccinélídeos são encontrados em quase todos os cultivos. São predadores de diversos pequenos artrópodes pragas, tais como ácaros, afídeos, cochonilhas, mosca-branca e tripses, e são, portanto, importantes agentes de controle biológico. Das mais conhecidas e encontradas no Brasil, as espécies *Harmonia axyridis* e *Hippodamia convergens* são utilizadas na América do Norte, Ásia e Europa, principalmente para controlar infestações causadas por afídeos em cultivo

protegido (van Lenteren, 2012). Quando necessário, sua aplicação pode ser direcionada para o pulgão-verde-da-soja, *Aphis glycines*.

Alguns percevejos predadores generalistas também podem ser direcionados para o controle biológico aplicado na soja. Neste caso, serão úteis para minimizar problemas causados por pequenos insetos e ácaros fitófagos. Dos percevejos controladores que se destacam no controle biológico aplicado são das famílias Anthocoridae, Geocoridae e Miridae.

Predadores do gênero *Orius* são insetos polítrófagos da família Anthocoridae e podem se alimentar de artrópodes e pólen e outras partes das plantas, sem causar dano econômico. Inclusive, estudo realizado com a espécie *Orius laevigatus* demonstra que pequenas injúrias são causadas por este inseto em plantas de pimenta e isso faz com que haja a ativação de mecanismos de defesa, tornando a planta menos atrativa para pragas como a mosca-branca e tripes (Bouagga et al., 2017). *Orius laevigatus* tem preferência por tripes, mas pode se alimentar de pulgões, ovos de lepidópteros, mosca-branca e ácaros. Isso torna essa espécie muito interessante para a cultura da soja, pois as pragas citadas acima podem ser encontradas nesta cultura. Estudos moleculares do conteúdo do trato digestório de *Orius tricolor* confirmam que mosca-branca é uma presa deste predador, sendo que adultos da praga são preferidos, mas outras fases de desenvolvimento também são consumidas pelo predador (Kheirodin et al., 2020). A espécie *Orius insidiosus* (Figura 8A) é comercializada como um bioinsumo e possui como característica sua alta eficiência na busca pela presa e conseguir manter populações na área de cultivo mesmo com baixa densidade de presas, uma vez que pode se alimentar de pólen.

Percevejo do gênero *Geocoris* são insetos de tamanho reduzido, entre 1 a 4 mm de comprimento. São facilmente identificáveis por apresentar os pares de olhos compostos bem pronunciados. São insetos de grande importância, pois podem se alimentarem de uma grande gama de artrópodes, como tripes, pequenas lagartas de lepidópteros, mosca branca, ácaros, entre outros (Kheirodin et al., 2020; Kóbor, 2020). Embora ainda não seja comercializado no Brasil, *Geocoris punctipes* tem se destacado como potencial agente de controle para uso aplicado.



Fotos: Geovanny Barroso.

Figura 8. Percevejos predadores *Orius insidiosus* (A) e *Macrolophus basicornis* (B), com potencial de uso aplicado para o controle de pequenos artrópodes na cultura da soja.

Macrolophus pygmaeus e *Nesidiocoris tenuis* são mirídeos predadores zoofitófagos promissores para o controle de mosca-branca, pulgões e outros pequenos insetos em programas de controle biológico de pragas na Europa (van Lenteren, 2012). No Brasil *Macrolophus basicornis* (Figura 8B) tem sido amplamente promissor para controlar mosca-branca.

Percevejos predadores do gênero *Podisus* são facilmente encontrados em lavouras e pertencem à família Pentatomidae, a mesma dos percevejos pragas. Para a diferenciação entre a espécie predadora e a fitófaga é necessário a observação do aparelho bucal destes insetos. O predador apresenta o aparelho bucal com tamanho reduzido e mais grosso. Já o fitófago apresenta o aparelho bucal fino e longo. São espécies que possuem alta agressividade para predação e dentre as presas estão as lagartas desfolhadoras da soja (Pires et al., 2015). Devido a esta alta demanda por alimentos, a criação massal destes predadores é dificultada por não possuir atualmente uma dieta artificial adequada, sendo necessária a alimentação por meio de presas alternativas, o que encarece a multiplicação em larga escala.

Os crisopídeos são considerados importantes agentes de controle biológico. As larvas são predadoras, e se alimentam de diferentes insetos e ácaros (New, 1975; Senior; McEwen, 2001). A liberação inundativa é o método mais comumente aplicado no caso de crisopídeos para implementação do controle biológico aplicado nos cultivos. No Brasil, o controle biológico aplicado com o uso desses agentes ainda não está consolidado, mas estudos têm motivado o uso de *Chrysoperla externa* e *Ceraeochrysa cubana* para o controle de diversas pragas.

Desafios e perspectivas

O controle biológico é um componente de suma importância para o manejo integrado de pragas. É um segmento crescente, que cada vez chama mais a atenção de agricultores, empresas, pesquisadores, extensionistas e outros profissionais ligados à agricultura. Segundo levantamento realizado pela CropLife Brasil, no ano de 2020, o mercado de biodefensivos movimentou mais de 5 bilhões de dólares e o crescimento anual tem sido de cerca de 15%. No Brasil, em 2020, foram aprovados 96 novos produtos biológicos, o que representa 22% do total de biodefensivos aprovados no país.

A legislação de produtos fitossanitários ganhou força com o Programa Nacional de Bioinsumos, lançado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), com foco redução da dependência dos produtores rurais com relação aos insumos de origem química. A partir desse grande passo, três produtos a base de insetos e ácaros predadores forma registrados atualmente, a saber: *Chrysoperla externa*, *N. barkeri* e *N. idaeus*.

Com esse mercado em plena expansão, pesquisas estão sendo desenvolvidas para a identificação de novos organismos, estudos bioecológicos e comportamentais para avaliar a capacidade de diversos agentes de controle biológico para o controle de pragas. Em uma busca no Google acadêmico - site especializado na busca de resultados de pesquisas científicas - com os termos em inglês para “controle biológico” e “insetos predadores”, foram encontrados cerca de 10 mil resultados. Com os termos em inglês “controle biológico” e “ácaros predadores”, foram encontrados 13.600 resultados. Limitando-se a busca para os últimos cinco anos, 2.800 e 3.900 resultados foram encontrados para insetos e ácaros, respectivamente, o que indica um crescente interesse sobre esse assunto nos últimos anos.

No entanto, alguns fatores são limitantes para o maior uso de controle biológico com predadores. Com poucas exceções, os predadores necessitam de mais de uma presa para completar o ciclo de vida e uma diversidade de fontes alimentares. Isso faz com que a criação massal seja dificultada, pois a adaptação dos predadores às dietas alternativas e/ou artificiais é ainda um grande desafio. Além disso, há necessidade de uma grande quantidade de mão-de-obra para os cuidados com a criação massal, pois não há ainda equipamentos automatizados para a manutenção de grandes criações de insetos.

Outro fator muito importante a ser levado em consideração é a distância entre os locais de produção e os locais de demanda dos produtos. As maiores empresas de controle biológico no Brasil estão localizadas no estado de São Paulo. Por outro lado, as maiores áreas de produção de soja estão localizadas nos estados de Mato Grosso, Paraná, Rio Grande do Sul e Goiás. Por se tratar de organismo vivo, o transporte deve ser realizado o mais rápido possível para evitar a mortalidade dos predadores, além disso, o armazenamento durante o transporte também deve ser levado em consideração para evitar o estresse desses organismos.

O Brasil é um país que possui uma grande biodiversidade. Grande parte desta diversidade ainda não foi completamente desvendada e novos organismos vêm sendo descobertos anualmente. Estudos com a capacidade de predação e uso no controle biológico são uma fonte primária para a descoberta de novos agentes de controle e, conseqüentemente, o desenvolvimento de bioinsumos. Com o crescente interesse na produção e liberação em larga escala de inimigos naturais, a perspectiva é de que haja cada vez maior uso de tecnologia de ponta para o controle biológico. Assim como para a liberação em larga escala para parasitoides, a liberação de predadores por meio de drones, sobretudo de ácaros fitoseídeos, já vem sendo realizada por algumas empresas (Figura 9). Com técnicas de sensoriamento remoto aplicado ao monitoramento de pragas em soja, há a possibilidade de liberações localizadas nos locais de infestação, reduzindo custos e mão-de-obra com controle.



Figura 9. Método de liberação de macroorganismos a granel em campo via drone. (A) detalhe do drone com dispenser acoplado; (B) liberação a granel sob comando de dispositivo digital automatizado.

Considerações finais

Os artrópodes predadores que ocorrem em lavouras de soja exercem uma importante contribuição na regulação populacional de pragas. Conforme observado neste capítulo, existem diferentes estratégias para incrementar as populações, permitindo a maximização da sua ação como agente de controle biológico. Desse modo, a ação conjunta de preservação, associada a outras técnicas de manejo (por exemplo a seleção de cultivares tolerantes e época de semeadura) associada ao uso de produtos seletivos irá permitir maior eficiência na ação dos predadores. Por fim, foi possível observar que embora ainda não sejam comercializados predadores para o controle de insetos-praga na cultura da soja, resultados prévios de pesquisa têm indicado que se trata de uma estratégia promissora e que irá auxiliar no manejo de pragas. Desse modo, salienta-se que os estudos com bioinsumos em soja são de grande importância, e as pesquisas têm apresentado um grande potencial para compatibilizar a produção com a sustentabilidade.

Referências

- ALTIERI, M. A. The ecological role of biodiversity in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, v. 74, n. 1, p. 19-31, 1999.
- BICKEL, D. J. Dolichopodidae (long-legged flies). In: BROWN, B. V.; BORKENT, A.; CUMMING, J. M.; WOOD, D. M.; WOODLEY, N. E.; ZUMBADO, M.A. (Eds.). *Manual of Central American Diptera (vol.1)*. Ottawa, ON: NRC-CNRC Research Press, 2009. p. 671-694.
- BOUAGGA, S.; URBANEJA, A.; RAMBLA, J. L.; GRANELL, A.; PÉREZ-HEDO, M. *Orius laevigatus* strengthens its role as a biological control agent by inducing plant defenses. *Journal of Pest Science*, v. 91, n. 1, p. 55-64, maio 2018.
- BUENO, A. F.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F.; BUENO, R. C. O. F. Inimigos naturais das pragas da soja. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. (Eds.). *Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga*. Brasília, DF: Embrapa, 2012. p. 493-630.
- CAUWER, B. de; REHEUL, D.; LAETHAUWER, S. de; NIJS, I.; MILBAU, A. Effect of light and botanical species richness on insect diversity. *Agronomy for Sustainable Development*, v. 26, n. 1, p. 35-43, 2006.
- CAVALCANTE, A. C. C.; MANDRO, M. E. A.; PAES, E. R.; DE MORAES, G. J. *Amblyseius tamatavensis* Blommers (Acari: Phytoseiidae) a candidate for biological control of *Bemisia tabaci* (Gennadius) biotype B (Hemiptera: Aleyrodidae) in Brazil. *International Journal of Acarology*, v. 43, n. 1, p. 10-15, ago. 2017.
- CAVALCANTE, A. C. C.; SANTOS, V. L. V. D.; ROSSI, L. C.; DE MORAES, G. J. Potential of five Brazilian populations of Phytoseiidae (Acari) for the biological control of *Bemisia tabaci* (Insecta: Hemiptera). *Journal of Economic Entomology*, v. 108, p. 29-33, fev. 2015.
- CIVIDANES, F. J.; ARAÚJO, E. S.; IDE, S.; GALLI, J. C. Distribution and habitat preference of Carabidae and Staphylinidae (Coleoptera) in an orange orchard and a forest fragment. *Florida Entomologist*, v. 93, n. 3, p. 339-345, 2010.
- CIVIDANES, F. J.; IDE, S.; RIBEIRO, A. A.; CIVIDANES, T. M. S. Potencial predatório de Carabidae e Staphylinidae (Coleoptera) sobre a lagarta-da-soja. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 49, n. 8, p. 652-655, 2014.
- DEBIASI, H.; FRANCHINI, J. C.; BALBINOT JR, A. A.; CONTE, O. *Diversificação de espécies vegetais como fundamento para a sustentabilidade da cultura da soja*. Londrina: Embrapa Soja, 2015. 60 p. (Embrapa Soja. Documentos, 366).
- DEMITE, P. R.; DE MORAES, G. J.; MCMURTRY, J. A.; DENMARK, H. A.; CASTILHO, R. C. *Phytoseiidae Database*. 2021. Disponível em: www.leaf.esalq.usp.br/phytoseiidae. Acesso em: 10 jul. 2021.
- DEMITE, P. R.; DE MORAES, G. J.; MCMURTRY, J. A.; DENMARK, H. A.; CASTILHO, R. C. Phytoseiidae Database: a website for taxonomic and distributional information on phytoseiid mites (Acari). *Zootaxa*, v. 3795, n. 5, p. 571-577, maio 2014.
- FONTES, E. M. G.; PIRES, C. S. S.; SUJII, E. R. Estratégias de uso e histórico. In: FONTES, E. M. G.; VALADARES-INGLIS, M. C. (Eds.). *Controle biológico de pragas da agricultura*. Brasília, DF: Embrapa, 2020. p. 21-43.
- GERSON, U.; SMILEY, R. L.; OCHOA, R. *Mites (Acari) for pest control*. Oxford: Blackwell Science, 2003. 539 p.
- GONTIJO, L. M. Engineering natural enemy shelters to enhance conservation biological control in field crops. *Biological Control*, v. 130, p. 155-163, 2019.

- GONZÁLEZ, E.; LANDIS, D. A.; KNAPP, M.; VALLADARES, G. Forest cover and proximity decrease herbivory and increase crop yield via enhanced natural enemies in soybean fields. *Journal of Applied Ecology*, v. 57, n. 11, p. 2296-2306, 2020.
- GONZÁLEZ, E.; SALVO, A.; DEFAGÓ, M. T.; VALLADARES, G. A moveable feast: insects moving at the forest-crop interface are affected by crop phenology and the amount of forest in the landscape. *PLoS One*, v. 11, n. 7, p. 1-19, 2016.
- GRECO, N. M.; SANCHEZ, N. E.; LILJESTROM, G. *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) as a potential control agent of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): effect of pest/predator ratio on pest abundance on strawberry. *Experimental and Applied Acarology*, v. 37, p. 57-66, out. 2005.
- GURR, G. M.; WRATTEN, S. D.; LANDIS, D. A.; YOU, M. Habitat management to suppress pest populations: progress and prospects. *Annual Review of Entomology*, v. 62, n. 1, p. 91-109, 2017.
- HALLETT, R.; BAHLAI, C.; XUE, Y.; SCHAAFSMA, A. Incorporating natural enemy units into a dynamic action threshold for the soybean aphid, *Aphis glycines* (Homoptera: Aphididae). *Pest Management Science*, v. 70, p. 879-888, 2014.
- HINDS, J.; BARBERCHECK, M. E. Diversified floral provisioning enhances performance of the generalist predator, *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae). *Biological Control*, v. 149, 104313, 2020.
- HONEK, A.; MARTINKOVA, Z.; SASKA, P.; PEKAR, S. Size and taxonomic constraints determine the seed preferences of Carabidae (Coleoptera). *Basic and Applied Ecology*, v. 8, p. 343-353, 2007.
- HOSHINO, A. T. **Influência de fragmentos de mata sobre insetos fitófagos e inimigos naturais na soja e milho**. 2010. 125 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Estadual de Londrina, Londrina.
- HUANG, J.; ZHOU, K.; ZHANG, W.; DENG, X.; VAN DER WERF, W.; LU, Y.; WU, K.; ROSEGRANT, M. Uncovering the economic value of natural enemies and true costs of chemical insecticides to cotton farmers in China. *Environmental Research Letters*, v. 13, 064027, 2018.
- KHEIRODIN, A.; SIMMONS, A. M.; LEGASPI, J. C.; GRABARCZYK, E. E.; TOEWS, M. D.; ROBERTS, P. M.; CHONG, J.-H.; SNYDER, W. E.; SCHMIDT, J. M. Can generalist predators control *Bemisia tabaci*. *Insects*, v. 11, n. 11, p. 823, nov. 2020.
- KÓBOR, P. A review on biology and agricultural significance of big-eyed bugs (Heteroptera:Lygaeoidea: Geocoridae). *Hungarian Agricultural Research*, v. 29, n. 2, p. 4-10, maio 2020.
- KNAPP, M.; VAN HOUTEN, Y.; VAN BAAL, E.; GROOT, T. Use of predatory mites in commercial biocontrol: current status and future prospects. *Acarologia*, v. 58, p. 72-82, jul. 2018.
- LINDQUIST, E. E.; KRANTZ, G. W.; WALTER, D. E. Order Mesostigmata. In: KRANTZ, G. W.; WALTER, D. E. (Ed.) *A Manual of Acarology*. 3th Ed. Lubbock: Texas Tech University Press, 2009. p. 124-232.
- MARTINS, I. C. F.; CIVIDANES, F. J. Composição de Carabidae (Coleoptera) em sistema produtivo de soja/milho. *Entomological Communications*, v. 2, ec02002, 2020.
- MARTINS, I. C. F.; CIVIDANES, F. J.; IDE, S.; HADDAD, G. Q. Diversity and habitat preferences of Carabidae and Staphylinidae (Coleoptera) in two agroecosystems. *Bragantia*, v. 71, n. 4, p. 471-480, 2012.
- MASSARO, M.; de MORAES, G. J. Predation and oviposition potential of Brazilian populations of the predatory mite *Amblyseius tamatavensis* (Acari: Phytoseiidae) on eggs of *Bemisia tabaci* (Insecta: Hemiptera). *Acarologia*, v. 59, n.1, p. 120-128, 2019.
- MATTA, D. H. da; CIVIDANES, F. J.; SILVA, R. J.; BATISTA, M. N.; OTUKA, A. K.; CORREIA, E. T.; MATOS, S. T. S. Feeding habits of Carabidae (Coleoptera) associated with herbaceous plants and the phenology of coloured cotton. *Acta Scientiarum Agronomy*, v. 39, n. 2, p. 135-142, 2017.
- MCMURTRY, J. A.; MORAES, G. J.; SOURASSOU, N. F. Revision of the lifestyles of phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae) and implications for biological control strategies. *Systematic and Applied Acarology*, v. 18, n. 4, p. 297-320, dez. 2013.
- MENDES, S. M.; BUENO, V. H. P.; ARGOLLO, V. M.; SILVEIRA, L. C. P. Type of prey influences and consumption rate of *Orius insidiosus* (Say) (Hemiptera: Anthocoridae). *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 46, n. 1, p. 99-103, 2002.
- MURRAY-SMITH, C.; BRUMMITT, N. A.; OLIVEIRA-FILHO, A. T.; BACHMAN, S.; MOAT, J.; LUGHADHA, E. M. N.; LUCAS, E. J. Plant diversity hotspots in the Atlantic coastal forests of Brazil. *Conservation Biology*, v. 23, n. 1, p. 151-163, 2008.
- NARANJO, S. E.; ELLSWORTH, P. C.; FRISVOLD, G. B. Economic value of biological control in integrated pest management of managed plant systems. *Annual Review of Entomology*, v. 60, p. 621-645, 2015.
- NARANJO, S. E.; FRISVOLD, G. B.; ELLSWORTH, P. Economic value of arthropod biological control. In: ONSTAD, D. W.; CRAIN, P. R. (Ed.) *The Economics of Integrated Pest Management of Insects*. Oxon: CAB International, 2019. p. 49-85.
- NEW, T. R. The biology of Chrysopidae and Hemerobiidae (Neuroptera), with reference to their usage as biocontrol agents: a review. *Transactions of the Royal Entomological Society of London*, v. 127, p. 115- 140, jul. 1975.

- PASINI, A. *Biologia e técnica de criação do predador Calosoma granulatum* Perly, 1830 (Coleoptera: Carabidae), em *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae), lagarta da soja. 1995. 67 p. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- PIRES, E. M.; SOARES, M. A.; NOGUEIRA, R. M.; ZANUNCIO, J. C.; MOREIRA, P. S. A.; DE OLIVEIRA, M. A. Seven decades of studies with Asopinae predators in Brazil (1933-2014). *Bioscience Journal*, v. 31, n. 5, p. 1530-1549, set./out. 2015.
- POLLET, M.; GROOTAERT, P. An estimation of the natural value of dune habitats using Empidoidea (Diptera). *Biodiversity & Conservation*, v. 5, n. 7, p. 859-880, 1996.
- PREZOTO, F.; GOBBI, N. Flight range extension in *Polistes simillimus* Zikán, 1951 (Hymenoptera, Vespidae). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 48, n. 6, p. 947-950, 2005.
- REICHERT, M. B.; TOLDI, M.; RODE, P. A.; FERLA, J. J.; FERLA, N. J. Biological performance of the predatory mite *Neoseiulus idaeus* (Phytoseiidae): a candidate for the control of tetranychid mites in Brazilian soybean crops. *Brazilian Journal of Biology*, v. 77, n. 2, p. 361-366, abr.-jun. 2017.
- REICHERT, M. B.; DA SILVA, G. L.; ROCHA, M. D. S.; JOHAN, L.; FERLA, N. J. Mite fauna (Acari) in soybean agroecosystem in the northwestern region of Rio Grande do Sul State, Brazil. *Systematic and Applied Acarology*, v. 19, p. 123-136, jun. 2014.
- REZENDE, J. M.; LOFEGO, A. C.; NUVOLONI, F. M.; NAVIA, D. Mites from Cerrado fragments and adjacent soybean crops: does the native vegetation help or harm the plantation?. *Experimental and Applied Acarology*, v. 64, n. 4, p. 501-518, 2014.
- RHODES, E. M.; LIBURD, O. E. Evaluation of predatory mites and acramite for control of twospotted spider mites in strawberries in North Central Florida. *Journal of Economic Entomology*, v. 99, p. 1291-1298, ago. 2006.
- ROGGIA, S.; GUEDES, J. V. C.; KUSS, R. C. R.; ARNEMANN, J. A.; NAVIA, D. Spider mites associated to soybean in Rio Grande do Sul, Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 43, n. 3, p. 295-301, mar. 2008.
- RUSCH, A.; CHAPLIN-KRAMER, R.; GARDINER, M. M.; HAWRO, V.; HOLLAND, J.; LANDIS, D.; THIES, C.; TSCHARNTKE, T.; WEISSER, W. W.; WINQVIST, C.; WOLTZ, M.; BOMMARCO, R. Agricultural landscape simplification reduces natural pest control: A quantitative synthesis. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, v. 221, p. 198-204, 2016.
- SCHAUSBERGER, P.; WALZER, A. Combined versus single species release of predaceous mites: predator-predator interactions and pest suppression. *Biological Control*, v. 20, p. 269-278, mar. 2001.
- SENIOR, L. J.; MCEWEN, P. K. The use of lacewings in biological control. In: MCEWEN, P.; NEW, T. R.; WHITTINGTON, A. E. (Eds.). *Lacewings in the crop environment*. Cambridge: Academic, 2001. p. 296-302.
- SISMEIRO, M. N. dos S. *Inimigos naturais na vegetação espontânea em terraços no sistema produtivo soja-trigo*. 2012. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina.
- SOUSA NETO, E. P.; FILGUEIRAS, R. M. C.; MENDES, J. A.; MONTEIRO, N. V.; DE LIMA, D. B.; PALLINI, A.; MELO, J. W. S. A drought-tolerant *Neoseiulus idaeus* (Acari: Phytoseiidae) strain as a potential control agent of two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Biological Control*, v. 159, ago. 2021.
- SOUSA NETO, E. P.; FILGUEIRAS, R. M. C.; MENDES, J. A.; MELO, J. W. S. Functional and numerical responses of *Neoseiulus idaeus* and *Neoseiulus californicus* to eggs of *Tetranychus urticae*. *International Journal of Acarology*, v. 45, p. 1-4, jul. 2019.
- SNYDER, W. E. Give predators a complement: Conserving natural enemy biodiversity to improve biocontrol. *Biological control*, v. 135, p. 73-82, 2019.
- SOUTHON, R. J.; FERNANDES, O. A.; NASCIMENTO, F. S.; SUMNER, S. Social wasps are effective biocontrol agents of key lepidopteran crop pests. *Proceedings of the Royal Society B*, v. 286, n. 1914, p. 20191676, 2019.
- SOUZA, M. M. de; PIRES, E. P.; ELPINO-CAMPOS, A.; LOUZADA, J. N. C. Nesting of social wasps (Hymenoptera: Vespidae) in a riparian forest of Rio das Mortes in southeastern Brazil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v. 36, n. 2, p. 189-196, 2014.
- TOLDI, M.; REICHERT, M.; RODE, P. D.; JOHANN, L.; FERLA, N. J. Influence of various preys in soybean and the biological performance of the predatory mite *Neoseiulus californicus* (Phytoseiidae). *Systematic & Applied Acarology*, v. 21, n. 12, 1662-1669, dez. 2016.
- VAN LENTEREN, J. C. The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. *BioControl*, v. 57, p. 1-20, jul. 2012.
- WALTER, D. E.; PROCTOR, H. C. *Mites: Ecology, Evolution & Behaviour: Life at a Microscale*. New York; London: Springer Dordrecht Heidelberg, 2013.
- ZHANG, Z-Q. *Mites of Greenhouses Identification, Biology and Control*. Cambridge: CABI Publishing, 2003. 244 p.

Manejo de pragas com nematoides entomopatogênicos

Viviane Sandra Alves

Vanessa Andaló

Luis G. Leite

Alcides Moino Junior

Introdução

Os nematoides entomopatogênicos (NEP) são aqueles que se associam a bactérias simbiotes causando doenças sobre seus hospedeiros. Os grupos mais estudados e conhecidos compreendem as famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae, cuja patogenicidade está associada à ação de bactérias dos gêneros *Xenorhabdus* e *Photorhabdus*, respectivamente (Grewal et al., 2005).

Espécies do gênero *Oscheius* também podem apresentar associações temporárias ou oportunistas com bactérias entomopatogênicas do gênero *Serratia* (Ye et al., 2010; Zhang et al., 2008, 2009), e embora esta não seja uma associação obrigatória, como nos outros grupos, aumenta a patogenicidade dos nematoides e acelera a morte do inseto hospedeiro (Dillman et al., 2012).

Neste capítulo nos concentraremos em abordar trabalhos com NEP dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis*, cuja aplicação tenha sido voltada para pragas de importância na cultura da soja.

Nematoides entomopatogênicos dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis*

A associação NEP + bactéria é específica e cada nematoide associa-se exclusivamente a uma única espécie de bactéria (steinernematídeos a *Xenorhabdus* spp. e heterorhabditídeos a *Photorhabdus* spp.) (Gaugler; Kaya, 1990; Boemare et al., 1997). Esta associação é também mutualística, a bactéria contribui proporcionando a morte rápida do inseto por septicemia e sintetizando nutrientes e antibióticos necessários para o nematoide, que por sua vez contribui com a disseminação de um hospedeiro para outro e oferecendo proteção no ambiente externo (Shapiro-Ilan et al., 2017).

São as substâncias secretadas pelas bactérias simbiotes que conferem coloração característica aos hospedeiros mortos, de maneira que insetos mortos pelo complexo *Photorhabdus* + *Heterorhabditis* adquirem coloração avermelhada enquanto *Xenorhabdus* + *Steinernema* deixam seus hospedeiros com coloração variando entre o amarelo escuro a marrom (Figura 1).

A única fase do nematoide que é encontrada livre no ambiente é conhecida como juvenil infectante (JI) (Figura 2A), e corresponde ao terceiro estágio juvenil. Antes de sair do cadáver hospedeiro, os JI



Foto: Nathalia Costalonga Andrade (A)

Fotos: Viviane Sandra Alves (B e C).

Figura 1. A) Larvas de *Galleria mellonella* saudáveis; B) larvas de *G. mellonella* infectadas por *Xenorhabdus* + *Steinernema*; C) larvas de *G. mellonella* infectadas por *Photorhabdus* + *Heterorhabditis*.

armazenam a bactéria simbiote (em um receptáculo na parte anterior do intestino nos steinernematídeos e no lúmen da parte posterior do intestino nos heterorhabditídeos) (Bird; Akhurst, 1983; Ciche; Ensign, 2003; Martens; Goodrich-Blair, 2005; Flores-Lara et al., 2007; Ciche et al., 2008) e deslocam-se no solo em busca de evidências da presença de novos hospedeiros (excrementos, CO₂, cairomônios, vibrações) (Shapiro-Ilan et al., 2017).

Quando encontram um hospedeiro, os JI penetram através das aberturas naturais, como aparato bucal, ânus e espiráculos, e em alguns casos através da cutícula (Dolinski, 2020). Assim que alcançam a hemolinfa, liberam a bactéria simbiote, que passa, então, a se multiplicar nos tecidos digeridos do hospedeiro, convertendo-os em nutrientes assimiláveis pelo nematoide.

A morte do hospedeiro ocorre em cerca de 48 horas, devido à alta multiplicação bacteriana e à síntese de toxinas pelos nematoides e pelas bactérias, que sintetizam também antibióticos, que impedem o crescimento de outros microrganismos saprofitos, garantindo um ambiente seguro para o desenvolvimento do nematoide, que passa a se alimentar das bactérias e dos tecidos decompostos do hospedeiro (Akhurst, 1982; Chen et al., 1994).

Os JI passam então à fase de J4, e posteriormente à fase adulta, quando se reproduzem. Dependendo do tamanho do inseto hospedeiro, duas ou mais gerações podem ocorrer dentro de um mesmo cadáver. Quando os nutrientes começam a diminuir, juvenis de segundo estágio passam para o estágio de JI, armazenam uma alíquota da bactéria simbiote e migram para o solo em busca de um novo hospedeiro (Hirao; Ehlers, 2009; Jensen et al., 2000).

Embora bastante semelhante, o ciclo de vida de NEP dos gêneros *Steinenema* e *Heterorhabditis* apresentam diferenças. Apenas JI de heterorhabditídeos podem penetrar a cutícula dos hospedeiros, pois são dotados de um dente quitinoso que lhes permite perfurar regiões membranosas ou intersegmentares do exoesqueleto (Figura 2B). Além disso, enquanto steinernematídeos são exclusivamente gonocóricos, apresentando machos e fêmeas em todos os ciclos dentro do hospedeiro, JI de heterorhabditídeos dão origem a fêmeas hermafroditas (anfimíticas), e machos e fêmeas são observados apenas a partir da segunda geração (Stock, 2015).

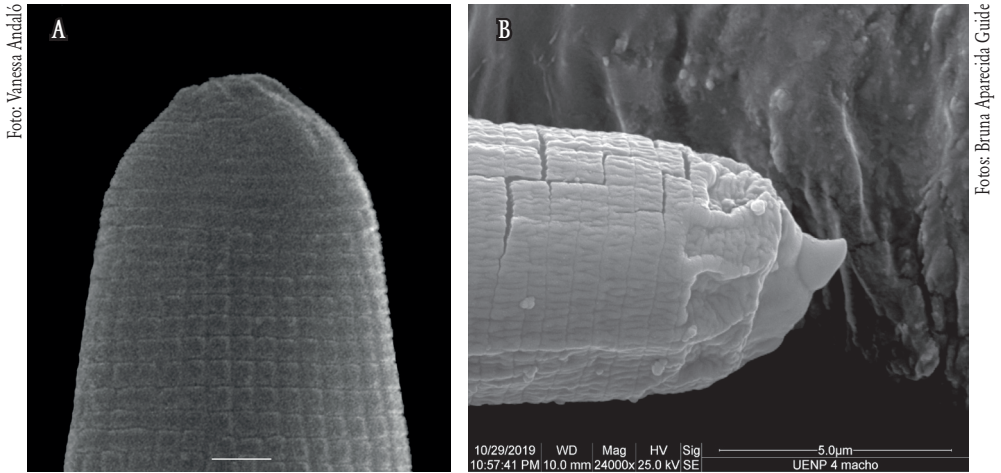


Figura 2. A) Juvenil infectante com cutícula externa. B) Dente quitinoso presente em juvenis infectantes do gênero *Heterorhabditis*.

Os NEP podem apresentar diferentes padrões de busca pelos hospedeiros no solo. As espécies que se deslocam ativamente são conhecidas como *cruiser*. Outras, no entanto, apresentam baixa mobilidade no solo e apresentam o comportamento *ambusher*, ficando à espreita do hospedeiro, permanecendo os JI fixos ao substrato pela região posterior do corpo (Lewis et al., 1992; Campbell; Lewis, 2002; Lewis, 2002; Shapiro-Ilan et al., 2017). Algumas espécies são consideradas intermediárias, e ora apresentam comportamento *ambusher*, ora *cruiser*. Além disso, estudos têm sugerido que o ambiente e a presença/ausência de estímulos ambientais também podem influenciar no tipo de forrageamento.

A sobrevivência dos NEP no ambiente, e consequentemente sua eficiência, depende de fatores bióticos e abióticos. Buscar conhecer concentrações adequadas para a realização de aplicações, possíveis microrganismos antagonistas ou sinérgicos no ambiente, e como ocorrem suas interações com os NEP, bem como as características físico-químicas do solo, condições adequadas de temperatura e horários de aplicação, podem contribuir para o sucesso da sobrevivência e eficiência dos JI no ambiente (Shapiro-Ilan et al., 2017).

O conhecimento acerca dos NEP no Brasil e no mundo evoluiu muito nos últimos anos, e o uso desses agentes no controle de pragas tem merecido destaque, principalmente para hospedeiros que passam parte do ciclo de vida associados ao solo. A disponibilidade de produtos registrados com NEP em sua formulação agora é uma realidade em nosso país, com o registro de *Heterorhabditis bacteriophora* para controle de *Sphenophorus levis*, *Conotrachelus humeropictus* e *Diabrotica speciosa* (Mapa, 2022).

Acreditamos que o número de registros tende a se intensificar com Programa Nacional de Bioinsumos (Decreto N° 10.375, de 26 de maio de 2020) que considera os NEP como produtos microbiológicos, e não microbiológicos, facilitando a regulamentação e o registro, uma vez que os microbiológicos são isentos de alguns testes específicos exigidos para os demais produtos fitossanitários.

NEP no controle de pragas da soja

Dentre o complexo de pragas que atacam a soja, muitas passam se não todo o ciclo de vida, boa parte dele, no solo, e por isso, é de se esperar que o controle desses insetos usando NEP seja favorável, uma vez que este é também o nicho preferencial desses agentes. No entanto, estudos usando os NEP como agente potencial para o controle de pragas da soja ainda são incipientes, e há muito a ser feito.

Antes de ser um ponto negativo, a constatação da carência de estudos nesta área é um motivador e um convite ao desenvolvimento de novos trabalhos para a prospecção das espécies de NEP que ocorrem em nosso país, conhecimento de suas características bioecológicas e de seu potencial como agentes no controle de pragas nas mais variadas culturas.

NEP no controle de pragas que atacam raízes da soja

Corós da soja: Scarabaeoidea

Relatos de controle com NEP sobre as espécies de corós associadas à soja no Brasil ainda são raros. Isto indica que esta é uma área com grande necessidade de estudo e levantamento de estratégias de controle para estes insetos pragas, haja visto que trabalhos com outras espécies de corós, dos mesmos gêneros daqueles pragas da soja, comprovam a eficiência dos NEP no controle desses coleópteros.

Santos et al. (2007) realizaram avaliação de um steinernematídeo sobre *Liogenys suturalis*, que é uma praga mais frequente na cultura do milho, mas também pode ocorrer na cultura da soja. Os resultados destacam os NEP como uma alternativa promissora para o controle desses corós, causando até 45,7% de mortalidade de larvas pelo nematoide *Steinernema brasiliense* (isolado IBCB-N6) na concentração de 200 JI/larva.

Trabalhos destacam os NEP como virulentos para corós de espécies do gênero *Phyllophaga* e *Diloboderus* em testes realizados em condições de laboratório (Quintero-Marin et al., 2006; Koppenhöfer et al., 2008; Girón-Pablo et al., 2015a, b), casa-de-vegetação (Koppenhöfer et al., 2008; Del Valle et al., 2017) e em condições de campo (Koppenhöfer; Fuzy, 2008; Liesch; Williamson, 2010; Del Valle et al., 2017; Kajuga et al., 2018), o que ressalta esses agentes como alternativa para o controle das espécies de corós associadas à cultura da soja no Brasil.

Entre as espécies de corós já comprovadas como suscetíveis aos NEP, podem-se citar *Diloboderus abderus* (Del Valle et al., 2017), *Popillia japonica*, *Anomala (Exomala) orientalis* e *Cyclocephala borealis* (Ebssa et al., 2012; Elmowitz et al., 2013), *Anomala graueri* (Kajuga et al., 2018), *Cyclocephala hirta*, *C. pasadenae*, e *C. borealis* (Koppenhöfer et al., 2002), *Phyllophaga bicolor* (Melo et al., 2010) e *Phyllophaga menetriesi* (Quintero-Marin et al., 2006). Esses trabalhos ressaltam os NEP como uma alternativa potencial para o controle de corós. Entretanto, fatores como a densidade do hospedeiro no solo (Ebssa et al., 2012), o intervalo da aplicação e a persistência do nematoide no solo (Koppenhöfer e Fuzy, 2008) podem afetar a eficiência dos NEP sobre os corós, indicando que estes fatores devem ser levados em consideração na implementação de programas de controle de corós com NEP.

O fato dos corós habitarem o solo na maior parte, senão em todo seu ciclo de vida é o principal fator para considerar os NEP como agentes de controle para esses insetos. Esse fator, ao mesmo tempo que é um limitante para a ação de outros inimigos naturais, favorece a ação dos NEP, que também ocupam esse

nicho no ambiente. Há que se considerar, entretanto, a necessidade de estudos aprofundados, escolhendo isolados (ou mesmo espécies) de nematoides com maior potencial de controle para cada espécie praga.

Curculionidae: *Pantomorus* e *Naupactus*

Estudos visando o controle de coleópteros do gênero *Naupactus* spp. com NEP foram desenvolvidos ainda na década de 90, relatando o potencial de *Heterorhabditis bacteriophora* para infectar hospedeiros como *Naupactus xanthographus* (Doucet; Giayeto, 1994), de *Heterorhabditis argentinensis* sobre larvas de *Naupactus* sp., e de *H. bacteriophora*, *Steinernema feltiae* e *Steinernema rarum* nativos da Argentina sobre diferentes hospedeiros, entre eles *Naupactus cinereidorsum* (Doucet et al., 1999).

Mais recentemente, estudos visando a elaboração de um programa de manejo integrado baseado no controle biológico para a espécie *Naupactus godmani*, praga de citros na Califórnia/EUA, apresentaram resultados significativos em laboratório, porém quando avaliados a campo não foi observado efeito de controle (Gulcu et al., 2019). Para o gênero *Pantomorus* spp. há relatos de larvas infestadas a campo, e de NEP isolados a partir dessas larvas (Ahmad, 1974).

Não é raro espécies que mostram-se suscetíveis em laboratório, apresentarem maior resistência a ação dos NEP em condições de campo, onde há a interferência de muitos fatores que em laboratório podem ser controlados (bióticos e abióticos), mas que no campo acabam interferindo e atuando a favor do inseto praga.

***Dysmicoccus brevipes* e *Pseudococcus* spp.**

O controle de cochonilhas farinhentas, pragas de raiz, com NEP vem sendo estudado para diferentes espécies, em condições de laboratório, casa-de-vegetação e campo, como *Dysmicoccus vacinni*, *Dysmicoccus texensis* (Andaló et al., 2004; Alves et al., 2009a, b; Alves; Moino Jr., 2009), *Dysmicoccus* spp. (Guide et al., 2016) e para *Dysmicoccus brevipes* (Ferreira et al., 2015; Zart et al., 2021). O controle de *D. brevipes* com NEP foi avaliado em condições de laboratório, evidenciando que isolados heterorhabditídeos foram mais virulentos que os steinematídeos (Ferreira et al., 2015). A maior eficiência dos heterorhabditídeos se deve provavelmente ao tamanho reduzido dos JI, que facilita a penetração pelas aberturas naturais (aparato bucal, ânus e espiráculos) e à presença de uma estrutura quitinosa, que propicia perfurar a cutícula do inseto em regiões membranosas, aumentando as chances de infecção (Stuart et al., 1997).

Quanto às espécies de heterorhabditídeos, Ferreira et al. (2015) não observaram diferença entre *H. bacteriophora* (HP88), *Heterorhabditis mexicana* (Hmex), *Heterorhabditis indica* (HPP22 e HPP30) e *Heterorhabditis baujardi* (LPP35). Em contrapartida, os resultados de Zart et al. (2021), evidenciaram diferença de virulência entre isolados de *Heterorhabditis amazonensis* provenientes de diferentes regiões brasileiras e um isolado de *H. indica*.

A temperatura é um fator importante, que pode afetar o desempenho dos NEP no controle de *D. brevipes*, e temperaturas em torno de 25 °C são mais favoráveis a eficiência dos NEP do que valores mais extremos como 16 °C e 34 °C. Temperaturas baixas reduzem o movimento dos JI e, conseqüentemente, sua capacidade infectante, enquanto altas temperaturas podem intensificar o movimento levando a um maior gasto energético, e diminuindo a eficiência (Molyneux, 1985; Kaya, 1990).

Outros fatores relevantes levados em consideração em trabalhos realizados para controle de *D. brevipès* foram a concentração de JI necessária para causar mortalidade e a compatibilidade com produtos fitossanitários. Os isolados avaliados mostraram-se virulentos, com CL_{50} estimada em 3 a 5 JI/cm² para *H. indica* (LPP30 e LPP22, respectivamente) e mortalidade de até 88% com 25 JI/cm² para isolados de *H. amazonensis* (NEPET 11) (Ferreira et al., 2015; Zart et al., 2021). Com relação à compatibilidade, dentre os produtos avaliados (inseticidas, fungicidas e herbicidas) a maioria mostrou-se compatível com os NEP, sendo que apenas um inseticida à base de lufenurum e profenofós foi moderadamente tóxico (Zart et al., 2021). *Heterorhabditis amazonensis* (NEPET11) apresentou também capacidade de dispersão, deslocando-se tanto vertical quanto horizontalmente (Zart et al., 2021), o que é de extrema importância para o controle de insetos como *D. brevipès*, que apresenta baixa mobilidade.

Trabalhos com NEP associados a *Pseudococcus* spp. são mais raros. Stokwe e Malan (2015) trabalhando com a espécie *Pseudococcus viburni* observaram que isolados heterorhabditídeos também se mostraram mais virulentos que os steinernematídeos, além de penetrarem em maior número no hospedeiro, e serem capazes de se desenvolver com mais rapidez. Além disso, isolados da espécie *Heterorhabditis zealandica* foram capazes de infectar todos os estágios de desenvolvimento do inseto, embora as doses estimadas de CL_{50} e CL_{90} tenham sido consideradas altas (54 e 330 JI/inseto, respectivamente) quando comparadas a trabalhos realizados para outras coconilhas (Alves et al., 2009a; Zart et al., 2021), o que pode inviabilizar o controle a campo, pois altas doses podem elevar o custo ou mesmo inviabilizar a aplicação em áreas maiores.

Tratando-se do controle de coconilhas de raiz, é importante levar-se em consideração ainda, o hábito de forrageamento do nematoide, pois as coconilhas em sua maioria, são insetos com pouca mobilidade, e o uso de espécies com hábito *cruiser* que buscam ativamente por seus hospedeiros podem aumentar a chance de sucesso no controle.

Percevejos Cydnidae: *Scaptocoris* spp.

O único estudo com NEP em *Scaptocoris castanea* consistiu na avaliação em condições de laboratório de *Steinernema carpocapsae* sobre ninfas de *S. castanea*, causando até 90% de mortalidade para ninfas menores (Sartori et al., 2001). Apesar dos percevejos do gênero *Cyrtomenus* spp. terem importância reduzida na cultura da soja no Brasil, devido ao seu *status* de pragas chave em outras culturas, são mais estudados quanto às suas interações com os NEP. Já na década de 1990 os NEP eram estudados como agentes potenciais de controle para este gênero (Caicedo; Belloti, 1994), e posteriormente, nos anos 2000 foram testados produtos comerciais à base de NEP (Melo et al., 2006), tendo um produto à base de *H. bacteriophora* (Nematop[®]) causando até 90% de mortalidade após 30 dias da aplicação em casa-de-vegetação.

Diabrotica speciosa

Os NEP são potenciais agentes de controle de *Diabrotica speciosa*, tendo a fase larval do inseto como o principal alvo para controle. No entanto, ainda são poucos os trabalhos realizados visando o controle da praga com NEP, como descrito por San-Blas et al. (2019) e Dolinski et al. (2017), que avaliaram o uso

de NEP para o controle de *D. speciosa* na cultura do milho no Brasil (Santos et al., 2011) e da alfafa na Argentina (Stock, 1996).

A maior parte dos trabalhos realizados tratam sobre a utilização de NEP para o controle de outras espécies de *Diabrotica*, principalmente *D. virgifera virgifera* na cultura do milho. Em revisão realizada por Cabrera e Walsh et al. (2003) são reportados diversos trabalhos que demonstram esse potencial controle de *Diabrotica* constatando-se que a maioria dos trabalhos são referentes *D. v. virgifera*. O sucesso no controle de *D. v. virgifera*, *Diabrotica undecimpunctata* e *Diabrotica balteata* com NEP, podem ser observadas também para *D. speciosa*, como descrito em revisão realizada por Santos et al. (2016).

Kuhlmann e van der Burgt (1998) reportaram os diferentes agentes de controle biológico de *D. v. virgifera*, incluindo NEP. Os autores destacaram o uso de *S. carpocapsae* e *H. bacteriophora* para o controle de *D. v. virgifera*, e mencionaram a ocorrência natural de nematoides em *D. speciosa*.

Toth et al. (2020) e Modic et al. (2020), por exemplo, testaram o nematoide *H. bacteriophora* para controle de *D. v. virgifera* associado à inseticidas químicos, como clorpirifós e cipermetrina, na cultura do milho, e constataram o potencial de controle da praga utilizando o nematoide de forma associada ou não ao controle químico.

Jaffuel et al. (2020) avaliaram *H. bacteriophora* formulado com alginato no controle de larvas de *D. balteata* em casa-de-vegetação. Os autores verificaram que o nematoide foi capaz de controlar o inseto, no entanto, ressaltaram que o momento da aplicação é um importante fator que influencia no controle, já que quando aplicado uma semana após o início do ataque das larvas, o nematoide não foi considerado eficaz.

Estes trabalhos são alguns dos muitos desenvolvidos com diferentes espécies de *Diabrotica* que podem reforçar o uso de NEP em insetos da subtribo Diabroticina. Quanto à aplicação de nematoides das famílias Heterorhabditidae e Steinernematidae para *D. speciosa*, ainda são poucos os trabalhos encontrados, principalmente quando se compara com as demais espécies de *Diabrotica*. Ainda assim, no Brasil, existe um produto registrado à base de *H. bacteriophora* para controle de *D. speciosa*, comercializado na formulação pó molhável (Mapa, 2022).

A patogenicidade e a virulência de uma população de *H. bacteriophora* (= *H. argentinensis*) obtida em Córdoba, Argentina, foram avaliadas em larvas e adultos de *D. speciosa*, verificando-se que o nematoide é patogênico ao inseto na fase larval (Stock, 1996) e adulta (Doucet; Giayetto, 1994), porém foi considerado pouco virulento às larvas, causando mortalidade média de 16%, em condições de laboratório (Stock, 1996).

No Brasil, Santos et al. (2011) desenvolveram estudos com ovos e larvas de *D. speciosa* e observaram que os nematoides foram patogênicos às larvas, mas não aos ovos. *Heterorhabditis amazonensis* RSC01 causou 94% de mortalidade larval em testes de laboratório quando aplicado na concentração de 300 JI/larva. Também foram realizados testes em pupas, obtendo-se 80% de mortalidade na concentração de 250 JI/larva. Resultados semelhantes foram obtidos nos testes em casa-de-vegetação com larvas, confirmando o potencial do nematoide para controle da praga.

Poucos ainda são os estudos utilizando NEP para o controle de *D. speciosa* no Brasil, principalmente quando na cultura da soja. Baseando-se nos diversos estudos com outras espécies do gênero *Diabrotica*, que demonstram a capacidade do entomopatôgeno no controle dessas pragas, pode-se ressaltar a importância

do desenvolvimento de ensaios futuros que verifiquem a ação dos NEP em *D. speciosa*, considerando-se inclusive o uso de espécies nativas, isoladas no Brasil.

NEP no controle de pragas que atacam plântulas da soja (pecíolos e caule)

Elasmopalpus lignosellus

Georgis (1992) destaca o potencial de utilização de NEP como agentes de controle biológico de pragas, principalmente em função de características como o amplo espectro de hospedeiros, alta virulência, segurança para organismos não-alvo e eficácia de controle. Dentro desse cenário, o autor cita o potencial do uso de espécies de *Heterorhabditis* e *Steinernema* no controle de *E. lignosellus* na cultura do amendoim nos EUA. Jaramillo; Saavedra (2007) realizaram experimento em condições de campo visando o controle de *E. lignosellus* com *Heterorhabditis* sp. na cultura do aspargo, causando 50% de mortalidade de larvas.

No Brasil, os problemas com ocorrência de *E. lignosellus* têm aumentado, principalmente em plantios de soja feitos na região do Cerrado, que fornecem para o inseto boas condições para desenvolvimento, como a baixa umidade do solo e as temperaturas elevadas (Viana, 2011). Mesmo assim, ainda são poucos os trabalhos com NEP para controle da lagarta-elasma.

A patogenicidade e a virulência de *H. amazonensis* GL a pupas de *E. lignosellus* foram estudadas por Magnabosco et al. (2020) em condições de laboratório e casa-de-vegetação em plantas de milho. Os autores obtiveram a CL_{50} de 6,49JI/cm² após 48 h de contato do nematoide com as pupas, e CL_{90} de 39,7 JI/cm² com 48 h em laboratório. Em testes de casa-de-vegetação, quando os nematoides foram aplicados em pupas no solo, mortalidade de 50% foi obtida na concentração de 25 JI/cm².

Magnabosco et al. (comunicação pessoal) também avaliaram a virulência e a concentração de aplicação de NEP em larvas de *E. lignosellus* em condições de laboratório e casa-de-vegetação. *Heterorhabditis amazonensis* MC01 e *S. carpocapse* All foram considerados os mais virulentos, reduzindo a população de larvas acima de 90%. A concentração de *H. amazonensis* MC01 que causou maior mortalidade de larvas em laboratório foi de 182 JI/lagarta e em casa-de-vegetação não foi observada diferença entre as concentrações testadas, sendo a concentração de 190 JI/lagarta considerada potencial para continuidade dos testes em campo com *E. lignosellus*. Por meio desses estudos pode-se vislumbrar o potencial de uso de NEP no controle da lagarta-elasma como uma ferramenta a ser adicionada no manejo da praga, assim, trabalhos que verifiquem a ação dos nematoides em condições de campo na cultura da soja são fundamentais para obtenção dos parâmetros relacionados à eficiência de controle.

Agrotis spp. (Lepidoptera: Noctuidae)

A busca por alternativas de controle para os insetos deste gênero, motivou vários estudos a avaliarem o uso de NEP em países como Estados Unidos (Capinera et al., 1988; Lewis et al., 1996; Ebssa; Koppenhofer, 2011; Ebssa; Koppenhofer, 2012), China (Yan et al., 2014), Índia (Vashisth et al., 2018a), Turquia (Yuksel; Canhilal, 2018) e Brasil (Giannasi et al., 2018). Em trabalho desenvolvido por Capinera et al. (1988), *Steinernema feltiae* mostrou-se mais virulento que *Steinernema bibionis* e *Heterorhabditis heliothidis* sobre larvas de *A. ipsilon*. Yuksel; Canhilal (2018) e Ebssa; Koppenhofer (2012) observaram melhor

desempenho de steinernematídeos quando comparados a isolados de *Heterorhabditis*. No entanto, em trabalho desenvolvido por Ebssa e Koppenhofer (2011), isolados de heterorhabditídeos foram mais virulentos, havendo ainda trabalhos com isolados virulentos em ambos os gêneros de NEP (Yan et al., 2014; Giannasi et al., 2018).

Os diferentes instares do inseto também apresentam variações quanto à suscetibilidade, sendo que o quarto e o quinto instar mostraram-se mais suscetíveis em trabalho de Ebssa; Koppenhofer (2011), enquanto Giannasi et al. (2018) sugerem o terceiro e o quarto instar, assim como Vashisth et al. (2018a) trabalhando com a espécie *Agrotis segetum*. Já Yan et al. (2014) observaram que o segundo instar foi mais suscetível, quando comparado ao terceiro e quarto. Por outro lado, a fase pupal de *A. ipsilon* foi considerada a menos suscetível à ação dos NEP (Ebssa; Koppenhofer, 2011; Giannasi et al., 2018).

O método de produção dos NEP pode influenciar a virulência de alguns isolados sobre *A. ipsilon*. *Heterorhabditis megidis* e *S. carpocapsae* produzidos *in vivo* foram mais virulentos do que quando produtos produzidos *in vitro*, porém outros não mostraram diferença, como *H. bacteriophora* e *Steinernema riobrave* (Ebssa; Koppenhofer, 2011).

Embora numerosos, os estudos envolvendo o controle de larvas *Agrotis* com NEP são em sua maioria, trabalhos desenvolvidos em condições de laboratório. No entanto, Ebssa; Koppenhofer (2011) avaliaram isolados em condições de campo. *Steinernema carpocapsae* e *S. feltiae* mostraram-se mais eficientes no controle de larvas, e reduziram significativamente os danos causados por *A. ipsilon* em grama de campos de golfe. Além disso, observaram que a sobrevivência dos JI foi influenciada pelas condições ambientais, e a recuperação após a aplicação foi de 50% para *S. feltiae* e 25% para *S. carpocapsae* sugerindo que ambas as espécies podem fornecer um controle adequado para a lagarta-rosca em gramados. Também Yan et al. (2014) observaram que o NEP *H. indica*, *S. carpocapsae* e *S. longicaudum* foram eficazes no controle de *A. ipsilon* em condições de campo no cultivo de repolho, com resultados semelhantes aos obtidos com controle químico (clopirifós e ciflutrina).

NEP no controle de pragas que atacam folhas da soja

Spodoptera frugiperda

Guo et al. (2020) realizaram uma revisão sobre os principais agentes de controle microbiano de *Spodoptera frugiperda*, destacando trabalhos que demonstram a virulência dos NEP à lagarta-do-cartucho e o potencial de utilização em programas de controle da praga. Andaló et al. (2010) testaram espécies/isolados de NEP sobre larvas em laboratório, e selecionaram *S. arenarium* e *H. amazonensis* RSC02 em função das maiores mortalidades obtidas (85% e 90%, respectivamente). Na concentração de 200 JI/larva, *S. arenarium* e *H. amazonensis* RSC02 causaram 77,5% e 87,5% de mortalidade de larvas em casa-de-vegetação.

Garcia et al. (2008) testaram o efeito de diversas tecnologias de aplicação sobre a concentração, viabilidade e eficácia de JI de *H. indica* (IBCB-n5) e *Steinernema* sp. (IBCB-n6) no controle de *S. frugiperda* e verificaram que os nematoides podem ser aplicados com pulverizador sem haver perda na concentração e viabilidade. Quando utilizados pulverizadores com filtros de ponta com malha igual a 100 mesh houve decréscimo na concentração de JI aplicada. Com esses resultados é importante ressaltar a importância da

realização dos testes de aplicação e de campo, a fim de verificar se os nematoides permanecem viáveis e infectantes ao inseto.

Entender o comportamento do nematoide para busca do inseto também é um fator que auxiliará a chegar a resultados satisfatórios de controle em condições de campo. Andaló et al. (2012) testaram o deslocamento horizontal e vertical de *H. amazonensis* RSC2 na busca por larvas de *S. frugiperda* e verificaram que o nematoide foi capaz de localizar e matar o inseto em distâncias de até 60 cm (horizontal) e 20 cm (vertical). Os autores ressaltam a importância de se entender o comportamento dos NEP em busca do hospedeiro, já que diversos fatores estão envolvidos nesse processo e que estudos comportamentais são essenciais para garantir o sucesso em programas de controle utilizando NEP.

Outro estudo comportamental que fornece dados para o controle de *S. frugiperda*, se refere à resposta locomotora de *H. amazonensis* RSC5 em direção a diferentes fontes de estímulos (Andaló et al., 2017). Para isso, foi avaliada a atratividade do nematoide quanto à liberação de compostos provenientes de exsudatos radiculares de plantas na presença ou ausência de *S. frugiperda*. Foram estudados os exsudatos radiculares de plântulas de milho, feijoeiro, soja, pepino, alho e tomateiro com e sem alimentação de larvas de *S. frugiperda*. *Heterorhabditis amazonensis* foi atraído principalmente para a plântula de alho associada com alimentação de *S. frugiperda*, destacando que *H. amazonensis* se beneficia da associação entre a presença do inseto e os compostos químicos voláteis produzidos pelas plantas, quando atacadas por ele para localização do hospedeiro (Figura 3A).

A compatibilidade de NEP com outros agentes de controle de *S. frugiperda*, principalmente os produtos fitossanitários químicos usados na lavoura, também tem sido investigada. Estudos de compatibilidade têm sido desenvolvidos no Brasil usando metodologia da IOBC/WPRS, com adequações sugeridas por Negrisoni Jr et al. (2008), testando produtos registrados nas culturas do milho e da soja (Negrisoni Jr et al., 2010a; Negrisoni Jr et al., 2010b; Souza et al., 2012). Os resultados desses estudos possibilitam que, em alguns casos, seja feita a aplicação conjunta, propiciando melhor manejo da lavoura quanto à recomendação de aplicação dos produtos fitossanitários.

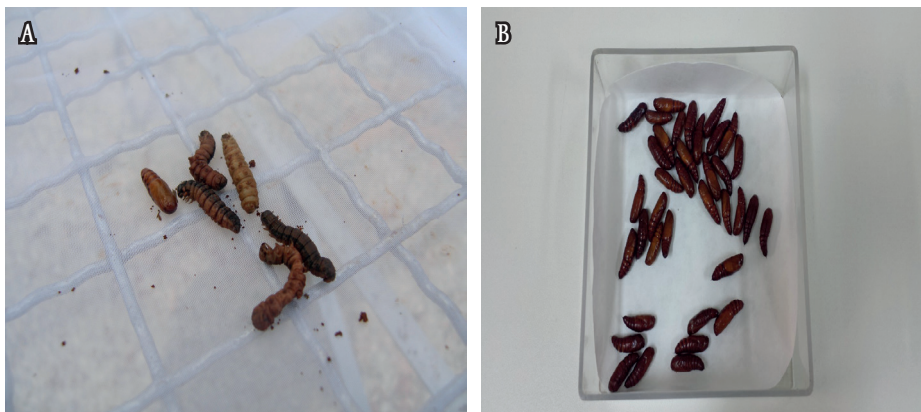


Figura 3. A) Larvas de *S. frugiperda* infectadas por *Heterorhabditis* spp. B) Pupas de *H. armigera* infectadas por *Heterorhabditis* spp.

Um exemplo dessa aplicação é o trabalho desenvolvido por Viteri et al. (2018) que visaram avaliar a eficácia de *S. carpocapsae* associado a baixas e altas doses de inseticidas químicos e de *B. thuringiensis* no controle de larvas de 5º instar de *S. frugiperda*. A associação considerada promissora no controle foi de *S. carpocapsae* + clorantniliprole ou espinosade, causando índices acima de 90% de mortalidade, nas maiores doses testadas, com 72 h de exposição.

Mertz et al. (2015) avaliaram os efeitos da associação de NEP com outro agente de controle biológico, o predador *Calosoma granulatum*. Os autores evidenciaram que os nematoides testados apresentaram potencial no controle de *S. frugiperda* e foram seguros para aplicação com *C. granulatum*, também agente de controle de *S. frugiperda*, havendo pequena possibilidade de interação negativa na associação de ambos no controle da praga.

Diversos outros estudos foram desenvolvidos comprovando a eficácia de ação de NEP contra larvas, pré-pupas e pupas de *S. frugiperda*, tanto em testes de laboratório, como casa-de-vegetação e campo. Pode-se destacar que para todos os estudos a seleção de isolados mostra-se essencial para determinar a virulência das espécies às diferentes fases de desenvolvimento do inseto. Nesse sentido, Acharya et al. (2020) realizaram estudos a fim de verificar a virulência de NEP a larvas de *S. frugiperda* e verificaram que quando em testes de laboratório *H. indica* e *S. carpocapsae* foram virulentos a larvas mais jovens, de 1º a 3º instar, enquanto *S. arenarium* e *S. longicaudum* foram mais virulentos a larvas mais velhas, de 4º a 6º instar. *Heterorhabditis bacteriophora* e *Steinernema kushidai* não foram considerados virulentos a nenhum instar larval de *S. frugiperda*, o que reforça a necessidade de realização de seleção das espécies/isolados mais propícios a causar mortalidade no inseto. Quando a avaliação foi realizada com os nematoides e as larvas dispostos em colunas de areia, *H. indica*, *S. carpocapsae* e *S. longicaudum* foram os mais virulentos para os últimos estádios larvais e para pupas. Assim, os autores concluíram recomendando os nematoides *H. indica*, *S. carpocapsae* e *S. longicaudum* para o controle biológico de *S. frugiperda*.

Steinernema diaprepesi foi considerado potencial no controle de *S. frugiperda* em estudo desenvolvido por Caccia et al. (2014). Foram realizadas avaliações de mortalidade e de produção de JI em larvas do inseto, gerando até 100% de mortalidade e produção de até 27.155 JI, o que demonstrou a suscetibilidade de *S. frugiperda* a *S. diaprepesi*.

Três isolados de *S. feltiae* (All, Mexican e o híbrido DD-136 x Breton) e *Steinernema bibionis* foram testados em larvas e pupas de *S. frugiperda* a fim de se determinar os mais virulentos. Os autores concluíram que *S. feltiae* Mexican foi o isolado mais virulento, *S. feltiae* All e *S. feltiae* híbrido foram intermediários e *S. bibionis* foi o nematoide com menor virulência a larvas e pupas de *S. frugiperda* (Fuxa et al., 1988).

Leyva-Hernández et al. (2018) avaliaram a virulência de *S. riobrave* e de *Rhabditis blumi* a larvas de terceiro instar de *S. frugiperda* nas concentrações de 100, 250 e 500 JI/larva, verificando a mortalidade dos insetos por até sete dias. Enquanto *S. riobrave* causou 90% de mortalidade na concentração de 500 JI, *R. blumi* não causou mortalidade de larvas. Assim, *S. riobrave* foi considerado um nematoide de alta virulência a *S. frugiperda* e potencial patógeno para ser utilizado em testes posteriores em campo.

Por meio de amostragens realizadas durante cinco anos em área de cultivo irrigado de milho na região do Lower Rio Grande Valley no Texas, EUA e no norte de Tamaulipas, México foi obtido um isolado de

Steinernema spp. de pré-pupas e pupas de *S. frugiperda*. Nesse período de coletas, na média de todos os anos de levantamento 9,3% de pré-pupas e pupas coletadas (correspondendo a 1.082 indivíduos) estavam parasitadas. Considerando todos os anos de avaliação, 46,1% da mortalidade de *S. frugiperda* ocorreram devido ao parasitismo por *Steinernema* sp., demonstrando o potencial de controle desse nematoide para *S. frugiperda* (Raulston et al., 1992).

Helicoverpa armigera

A principal forma de controle de *H. armigera* é por meio do uso de inseticidas químicos, no entanto, em diferentes localidades do mundo existem relatos de casos de resistência de *H. armigera* aos principais inseticidas utilizados para seu controle (Daly; Fitti, 1990). Desta forma, é fundamental a associação de diferentes métodos para reduzir a pressão de seleção sobre a praga (Kamaraj et al., 2008).

Glazer e Navon (1990) avaliaram *S. feltiae* sobre *H. armigera* e obtiveram 100% de mortalidade utilizando 200 JI/inseto, enquanto a DL_{50} foi de 54 JI/inseto, com o isolado *S. feltiae* All. Os instares iniciais foram os mais suscetíveis à infecção pelo nematoide, sendo necessárias 8 h de contato do inseto com o juvenil infectante para causar 80% de mortalidade. O isolado de *S. feltiae* Pye apresentou maior tolerância à dissecação e quando aplicado misturado com glicerol causou mortalidade de 75 de larvas. Enquanto *S. feltiae* All, nas mesmas condições e com o mesmo adjuvante, controlou apenas 10% de larvas, respectivamente. Esses resultados ressaltam a importância de estudos de adaptabilidade de isolados de nematoides, muitas vezes da mesma espécie, às condições ambientais e de infectividade e virulência ao hospedeiro.

Caoili et al. (2018) também realizaram um levantamento de ocorrência de nematoides nas Filipinas, sendo *Steinernema abbasi*, *Steinernema minutum*, *Steinernema tami* e *H. indica* isolados e posteriormente testados em larvas de *H. armigera* em laboratório. *Steinernema abbasi* MBLB foi considerado o mais virulento após 48 h de infecção, causando 28,15% de mortalidade.

Seenivasan e Sivakumar (2014) realizaram um levantamento em campos de algodoeiro na Índia e obtiveram 27 isolados de NEP. Esses isolados foram testados quanto à virulência a *H. armigera*, verificando-se também o potencial reprodutivo e a tolerância às condições ambientais. Todos os nematoides foram considerados patogênicos a larvas, com três isolados de *H. bacteriophora* e um de *S. carpocapsae* considerados os mais virulentos, causando mortalidade de 91,9% a 93,5%. Os nematoides mais virulentos foram também os que tiveram as maiores taxas de penetração, produzindo elevada quantidade de juvenis infectantes. Dos nematoides testados, cinco isolados foram considerados tolerantes à temperatura de 45 °C, com sobrevivência de 85% após 2 h de exposição a essa temperatura.

Ali et al. (2008) demonstraram a patogenicidade de cinco espécies de nematoides a larvas de *H. armigera*, considerando *Steinernema masoodi*, *Steinernema seamae* e *S. carpocapsae* as mais virulentas. Os mesmos autores testaram essas espécies de nematoides em diferentes temperaturas (15, 20, 25, 30, 35, 40 e 45 °C) sobre pré-pupas do inseto, verificando que quanto maior a temperatura maior a mortalidade dos nematoides. Mesmo assim, 46,6% dos nematoides sobreviveram à temperatura de 45 °C, causando ainda 43,3% de mortalidade de pré-pupas de *H. armigera*. Desta forma, os autores demonstraram que a temperatura é um fator que deve ser observado com critério para uso desses entomopatógenos no controle

da praga, e que selecionar populações tolerantes às condições ambientais irá auxiliar na sobrevivência do nematoide no campo e possibilitar maiores índices de controle (Ali et al., 2007).

O efeito de diferentes concentrações de *H. bacteriophora*, *S. carpocapsae* e *S. feltiae* foi avaliado sobre larvas de *H. armigera* em laboratório. Foram testadas as concentrações de 1, 10, 50, 100 e 500 JI/inseto aplicados de três diferentes formas, em papel filtro, na dieta artificial e no solo. *Heterorhabditis bacteriophora* foi considerado o mais virulento, causando 83% de mortalidade após 120 h de exposição na concentração de 500 JI/inseto, resultado similar aos encontrados nas demais formas de contato do nematoide com as larvas (Kary et al., 2012).

Vashisth et al. (2018b) testaram três espécies de *Heterorhabditis* a larvas de *H. armigera* em condições de laboratório, verificando que a virulência foi relacionada à concentração de juvenis infectantes aplicada (10, 20, 30 e 40 JI) e ao tempo de exposição ao nematoide, sendo que quanto maior a concentração de nematoide e o tempo em contato com os JI maior a mortalidade. Os autores também verificaram que quanto mais avançado o estágio larval menor a mortalidade causada pelos nematoides. Todos os nematoides reproduziram-se em *H. armigera* e o valor máximo obtido foi de $26,0 \pm 3,76 \times 10^3$ JI/larva na concentração de 40 JI/larva.

Banu et al. (2007) testaram *H. indica* e *Steinernema glaseri* sobre diferentes estádios de desenvolvimento de *H. armigera*, observando que não houve infecção em ovos e que larvas de 1º e 2º instar são as mais suscetíveis aos nematoides, inclusive não possibilitando o cálculo da CL_{50} em função da alta mortalidade observada após 24 h da aplicação. A CL_{50} para o 3º instar foi de 2,43 e 3,69 JI/larva de *S. glaseri* e *H. indica*, respectivamente. A maior CL_{50} foi obtida para pupas com valores de 91,46 e 84,67 JI/pupa para *S. glaseri* e *H. indica*, respectivamente. Os adultos emergidos de pupas tratadas foram malformados e 50% morreram após a emergência.

Dos testes de laboratório citados, pode-se inferir que diversas são as espécies de NEP patogênicas e virulentas a *H. armigera*, incluindo ambos os gêneros, *Steinernema* e *Heterorhabditis*. As espécies estudadas causaram mortalidade em todos os ínstares larvais, inclusive pré-pupas e pupas, porém quanto menor o instar, maior a mortalidade observada. Também pode-se destacar que a temperatura e as concentrações de aplicação dos JI influenciaram na mortalidade de *H. armigera*, devendo ser estudadas para cada espécie de nematoide na associação com o seu hospedeiro.

Trabalhos relacionados à resposta imune de *H. armigera* quanto à infecção pelos NEP complementam os estudos de laboratório, a fim de auxiliar na compreensão da elevada suscetibilidade do inseto ao entomopatôgeno. Análises da hemolinfa do inseto mostraram predominância da fase primária da bactéria simbiote (*Photorhabdus luminescens*), caracterizando sucesso na reprodução do nematoide (Gokte-Narkhedkar et al., 2019). Em pupas foi observada maior atividade da enzima fenoloxidase na hemolinfa dos insetos infectados com *S. feltiae* após 8 h da presença do nematoide no corpo do inseto (Ebrahimi et al., 2018), cuja presença foi correlacionada positivamente na hemolinfa do inseto com a presença de pró-hemócitos, granulócitos e oenocitoides, demonstrando que hemócitos e fenoloxidase são respostas imunes ativas contra a infecção pelo nematoide (Istkhari, Chaubey, 2018).

As formulações adequadas para armazenamento e melhor qualidade de aplicação dos NEP no campo são de extrema importância para o sucesso no controle da praga, principalmente quando se

considera a aplicação foliar e ambientes com condições climáticas extremas para os nematoides, como alta temperatura e baixa umidade. No caso da aplicação de NEP visando atingir a fase larval de *H. armigera*, essas formulações devem ser desenvolvidas considerando as condições adversas, já que o inseto está presente na parte aérea da planta.

Divya et al. (2011) testaram seis diferentes formulações de *H. indica* a fim de garantir maior tempo de armazenamento do nematoide mantendo as características de infectividade e virulência. As formulações com o nematoide foram serragem, hidrogel, pó de coco, talco, esponja e água, mantidas a 27 ± 2 °C e testadas em larvas de *H. armigera*. O hidrogel e a serragem possibilitaram maiores mortalidades, 85% e 95%, respectivamente, que as demais formulações. O maior tempo de armazenamento alcançado foi de 75 dias, obtido na formulação com hidrogel, mantendo 65% dos juvenis infectantes vivos. Assim, *H. indica* na formulação hidrogel causou 85% de mortalidade em *H. armigera* após 48 h quando aplicado na concentração de 100 JI/larva.

Uma formulação de *S. carpocapsae* em gel de alginato de cálcio foi testada no controle de larvas de *H. armigera*, causando 100% de mortalidade de larvas de 4º instar colocadas por 24 h expostas ao gel contendo 1.000 JI/g. Quando expostos 2º a 5º instares a concentração de 500 JI/g a mortalidade variou de 70% a 100%, sendo que os índices de mortalidade foram menores em instares maiores (Navon et al., 2002).

Steinemema carpocapsae foi testado por Yadav et al. (2008) em larvas de *H. armigera*, comparando as concentrações e o local de aplicação. Na aplicação foliar verificou-se que a máxima mortalidade foi de 41,67% na concentração de 600 JI/planta, enquanto quando aplicado no solo a máxima mortalidade foi de 34,1%, também na concentração de 600 JI/planta. Ambas as mortalidades foram obtidas 5 dias após a aplicação.

Em condições de campo *Heterorhabditis* sp. foi testado em larvas de *H. armigera* em área de plantio de feijão guandu, *Cajanus cajan*, aplicado com e sem adjuvantes. Foram obtidos índices de redução da população larval de 28,5% e 16,7%, respectivamente, comparado com a população inicial de larvas no campo, além de resultar em um rendimento de grãos 97,3% e 66,9% maior em relação ao controle não tratado. O nematoide testado apresentou resultados promissores para ser utilizado no manejo de *H. armigera* em *C. cajan*, principalmente quando associado a adjuvantes (Vyas et al., 2002).

Teste em campo foi realizado por Andaló et al. (2021), e os autores avaliaram a concentração de aplicação de *H. amazonensis* MC01 e *H. amazonensis* JPM4 em pupas de *H. armigera* em laboratório e casa-de-vegetação, e posteriormente, a mortalidade do inseto em condições de campo. *Heterorhabditis amazonensis* MC01 foi selecionado por causar 45% de mortalidade de pupas na concentração de 400 JI/pupa em laboratório. Em casa-de-vegetação ocorreram 80% de mortalidade na concentração de 600 JI/pupa, índice semelhante ao obtido em campo, 77% e 75%, quando os nematoides foram aplicados em suspensão aquosa ou inseto-cadáver, respectivamente (Figura 3B).

A realização de mais estudos de campo, avaliando os parâmetros associados à eficiência e à praticabilidade agrônômica, além de estudos que propiciem maior sobrevivência dos nematoides no campo após a aplicação, são necessários para o sucesso de controle de *H. armigera* com NEP.

NEP no controle de pragas que atacam vagens e grãos Complexo de percevejos da soja

Os percevejos são considerados atualmente o grupo de pragas de maior importância na cultura da soja (Panizi et al., 2012), com destaque para as espécies *Euschistus heros*, *Piezodorus guildinii* e *Nezara viridula*, podendo outras espécies também ganharem destaque dependendo da região do país. Trabalhos visando o controle de pentatomídeos com NEP não são frequentes, mas recentemente, a demanda por novas formas de controle dessas pragas tem despertado o interesse nesses agentes.

Em ensaios realizados com *Diceraeus melachanthus*, observou-se que esta espécie foi suscetível a isolados de NEP, tanto do gênero *Heterorhabditis* quanto *Steinernema*, que propiciaram mortalidades de 88% (*H. amazonensis* RSC05) e 82% (*Steinernema* spp. IBCB-n27) em condições de laboratório, e de 38% em condições de casa-de-vegetação (Guide et al., 2019).

Também foi avaliada a eficiência de diferentes isolados de *H. amazonensis* em condições de laboratório e campo sobre *E. heros*, obtendo-se até 100% de mortalidade em insetos adultos. Observou-se também que populações do inseto provenientes do campo e criação em laboratório apresentaram diferença na susceptibilidade, sendo os últimos considerados mais susceptíveis. Em condições de campo, no entanto, a mortalidade reduziu para 18% e nesta condição não houve diferença na mortalidade entre as populações de insetos de campo e laboratório (Ceconello, 2022) (Figura 4).

Mais recentemente Nanzer et al. (2021) realizaram testes em laboratório e casa-de-vegetação com os nematoides *S. diaprepesi* AM163, *S. carpocapsae* All e *S. carpocapsae* IP1 e observaram 100% de mortalidade de *E. heros* quando os JIs foram aplicados em areia na concentração de 140 JI/cm (1000 JI/inseto). No entanto, a aplicação tópica das bactérias simbióticas não apresentou resultados tão promissores, e causaram mortalidade de *E. heros* inferior a 40,3%. Com relação aos testes em estufa, *S. diaprepesi* AM163 causou até 72,5% de mortalidade em *E. heros* na concentração de 88,4 IJs/cm , e

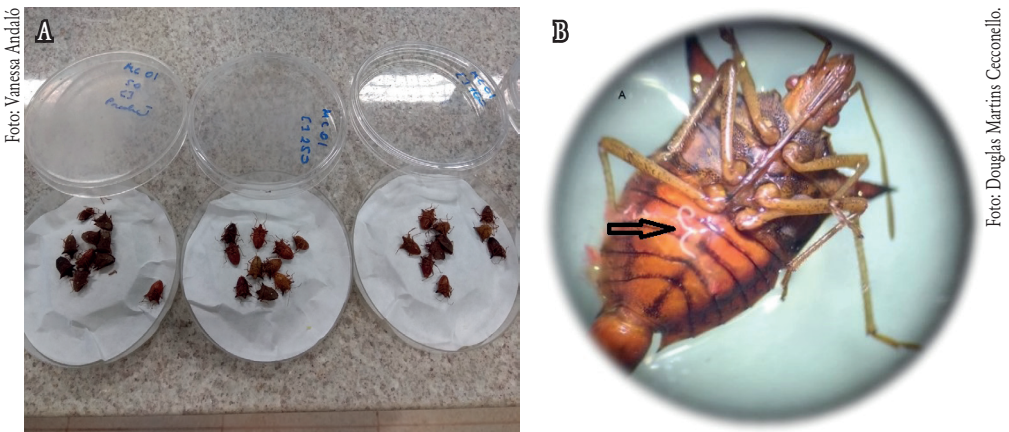


Figura 4. A) Adultos de *Euschistus heros* mortos por *Heterorhabditis amazonensis*. B) Adulto de *Euschistus heros* com nematoides emergindo de seu abdome durante confirmação de mortalidade.

segundo considerações dos autores, podem constituir uma alternativa de controle de *E. heros*.

A suscetibilidade de outros pentatomídeos aos NEP é relatada em trabalhos em condições de laboratório, como *Halyomorpha halys* (Gorgadze et al., 2017; Mikaia, 2018; Burjanadze et al., 2020), e a espécie *Nezara viridula* (Pushnya et al. 2020); Snasareva, 2020) que além de suscetível é indicada como hospedeiro alternativo com potencial para uso em produções comerciais de NEP pelo método *in vivo* (Pervez; Ali, 2011).

Não foram encontrados trabalhos visando avaliar a ação de NEP sobre *P. guildinii*, mas há relatos na literatura de ocorrência natural de nematoides menmitídeos sobre esta espécie (Kamminga et al., 2012).

A ocorrência de percevejos associados à soja tem prejudicado significativamente a produtividade da cultura. A ação agressiva desses insetos-praga, associada as grandes extensões da cultura em nosso país, constituem um grande desafio para os pesquisadores que tem trabalhado buscando alternativas de controle.

O uso de NEP pode ser uma ferramenta para o manejo de percevejos, e associada a outros métodos de controle, contribuir para a manutenção das populações da praga abaixo dos níveis de dano. Estudos que visem aplicações pontuais, associadas a métodos de atração como o uso de feromônios, por exemplo, ou aplicações direcionadas em locais utilizados como abrigo pelos insetos durante fases de diapausa são sugestões para pesquisas e novos estudos utilizando os NEP como agentes de controle.

Considerações finais

A situação atual do Manejo Integrado de Pragas no Brasil é de intensa mudança. A preocupação com o uso de insumos que garantam a produção sustentável atinge hoje não somente sistemas de cultivo não tradicionais, como a agricultura orgânica, cultivos certificados, mas também aqueles convencionais, nos quais se encaixam as grandes *commodities*, com destaque para a cultura da soja.

Assim, como visto neste capítulo, o Controle Biológico de Pragas, particularmente os Nematoides Entomopatogênicos, ganham papel cada vez mais importante como ferramentas que vêm auxiliar na obtenção de processos sustentáveis de produção, permitindo a inserção dos produtos nacionais nos mercados importadores mais exigentes com relação a regras de entrada de produtos de origem agrícola. Além disso, esses insumos contribuem e garantem a sustentabilidade ambiental, preocupação também cada vez maior entre os produtores do agronegócio brasileiro.

O Programa Nacional de Bioinsumos (Decreto 10.375, de 26/05/2020), foi lançado como um importante marco regulatório para vários setores econômicos, não somente o agronegócio, visando sanar, por meio das leis regulamentais vindouras, situações como a produção de insumos para uso próprio (*on farm*), estabelecer programas específicos para o fomento em Ciência, Tecnologia e Inovação, permitir a articulação de instrumentos de crédito com alvo no desenvolvimento de conhecimento, formação e capacitação pessoal, implantação de biofábricas, e o incentivo a programas locais em Estados e Municípios, entre outras ações (Brasil, 2020).

Esse programa procede de um conceito amplo, considerando bioinsumo como um “produto, processo ou tecnologia de origem vegetal, animal ou microbiana destinado ao uso nos diversos sistemas de produção, armazenamento e beneficiamento”, incluindo os sistemas de produção agrícola, pecuário, aquícola e florestal.

Dessa forma, traz grandes possibilidades para o mercado de produtos microbiológicos, dentre os demais bioinsumos, alguns em uso extenso na cultura da soja, como inoculantes, promotores de crescimento, biofertilizantes, outros biodefensivos, biofilmes, emulsões de nanopartículas, fitoquímicos, probióticos, entre outros.

Por fim, a situação favorável atual coloca, em vista dos exemplos já colocados no decorrer desse capítulo, os Nematoides Entomopatogênicos como ótimos candidatos a bioinsumos de destaque na cultura, podendo ser usados, com a validação das pesquisas em andamento, em várias frentes no Manejo de Pragas da Cultura da Soja.

Referências

- ACHARYA, R.; HWANG, H. S.; MOSTAFIZ, MD. M.; YU, Y. S.; LEE, K. Y. Susceptibility of various developmental stages of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, to Entomopathogenic Nematodes. *Insects*, v. 11, n. 868, p. 1-13, 2020.
- AHMAD, R. Studies on *Graphognathus leucoloma* (Boh.) Col.: Curculionidae and its natural enemies in the central provinces of Argentina. *Technical Bulletin of the Commonwealth Institute of Biological Control*, v. 17, p. 3751, 1974.
- AKHURST, R. J. Antibiotic activity of *Xenorhabdus* spp., bacteria symbiotically associated with insect pathogenic nematodes of the families Heterorhabditidae and Steinernematidae. *Journal of General Microbiology*, v. 128, p. 3061-3065, 1982.
- ALI, S. S.; PERVEZ, R.; HUSSAIN, M. A.; AHMAD, R. Effect of temperature on survival of *Steinernema seamae*, *S. masoodi* and *S. carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae) and their subsequent infectivity to prepupa of *Helicoverpa armigera* (Hübner). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, v. 40, n. 3, p. 183-187, 2007.
- ALI, S. S.; PERVEZ, R.; HUSSAIN, M. A.; AHMAD, R. Susceptibility of three lepidopteran pests to five entomopathogenic nematodes and in vivo mass production of these nematodes. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, v. 41, p. 4, p. 300-304, 2008.
- ALVES, V. S.; MOINO JR., A. Deslocamento vertical de nematoides entomopatogênicos (Rhabditida: Heterorhabditidae) na busca por *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae) em laboratório e casa-de-vegetação. *Ciência Agrotécnica*, v. 33, p. 971-976, 2009.
- ALVES, V. S.; MOINO JR., A.; SANTA-CECILIA, L. V. C.; ROHDE, C.; SILVA, M. A. T. da. Testes em condições para o controle de *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae) em caféiro com nematoides entomopatogênicos do gênero *Heterorhabditis* (Rhabditida: Heterorhabditidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 53, p. 139-143, 2009a.
- ALVES, V. S.; MOINO, J. A.; SANTA-CECILIA, L. V. C.; ANDALÓ, V.; SOUZA, G. C. Patogenicidade de nematoides entomopatogênicos a coconilha-da-raiz-do-caféiro *Dysmicoccus texensis* (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae) em laboratório. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 76, p. 67-73, 2009b.
- ANDALÓ, V.; FARIA, L. S.; CARVALHO, F. J.; ASSIS, G. A.; SANTOS, V.; MENDES, S. M.; GONRING, A. H. R. Entomopathogenic nematodes for the control of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) pupae. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 88, p. 1-8, e00742019, 2021.
- ANDALÓ, V.; MOINO JR., A.; SANTA-CECILIA, L. V. C.; SOUZA, G. C. Seleção de isolados de fungos e nematoides entomopatogênicos para a coconilha-da-raiz-do-caféiro *Dysmicoccus texensis* (Tinsley). *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 71, p. 181-187, 2004.
- ANDALÓ, V.; MOREIRA, G. F.; MOINO JR., A. Host-seeking behavior of the *Heterorhabditis amazonensis* nematode in response to stimulant sources. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v. 47, n. 3, p. 265-272, 2017.
- ANDALÓ, V.; SANTOS, V.; MOREIRA, G. F.; MOREIRA, G.; FREIRE, M.; MOINO JR., A. Movement of *Heterorhabditis amazonensis* and *Steinernema arenarium* in search of corn fall armyworm larvae in artificial conditions. *Scientia Agricola*, v. 69, n. 3, p. 226-230, 2012.
- ANDALÓ, V.; SANTOS, V.; MOREIRA, G. F.; MOREIRA, C. C.; MOINO JR., A. Evaluation of entomopathogenic nematodes under laboratory and greenhouses conditions for the control of *Spodoptera frugiperda*. *Ciência Rural*, v. 40, p. 1860-1866, 2010.
- BANU, B. J.; JOTHI, B. D.; NARKHEDKAR, N. G. Susceptibility of different stages of cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) to entomopathogenic nematodes. *International Journal of Nematology*, v. 17, n. 1, p. 41-45, 2007.
- BIRD, A. F.; AKHURST, R. J. The nature of the intestinal vesicle in nematodes of the family Steinernematidae. *International Journal of Parasitology*, v.

13, p. 599-606, 1983.

BOEMARE, N.; GIVAUDAN, A.; BREHELIN, M.; LAUMOND, C. Symbiosis and pathogenicity of nematode-bacterium complexes. *Symbiosis*, v. 22, p. 21-45, 1997.

BURJANADZE, M.; GORGADZE, O.; LUCA, F.; TROCCHI, A.; LORTKIPANIDZE, M.; KHARABADZE, N.; ARJEVANIDZE, M.; FANELLI, E.; TARASCO, E. Potential of native entomopathogenic nematodes for the control of brown marmorated stink bug *Halyomorpha halys* in Georgia. *Biocontrol Science and Technology*, p. 1-14, 2020.

BRASIL. Decreto nº 10.375, de 26 de maio de 2020. Programa Nacional de Bioinsumos. *Diário Oficial da União*, seção 1, edição 100, p. 105, 27 maio 2020. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/decreto-n-10.375-de-26-de-maio-de-2020-258706480>. Acesso em: 10 jun. 2021.

CABRERA, N.; WALSH, G. Host Range and Reproductive Traits of *Diabrotica speciosa* (Germar) and *Diabrotica viridula* (F.) (Coleoptera: Chrysomelidae), Two Species of South American Pest Rootworms, with Notes on other Species of Diabroticina'. *Environmental Entomology*, v. 32, p. 276-285, 2003.

CACCIA, M. G.; DEL VALLE, E.; DOUCET, M. E.; LAX, P. Susceptibility of *Spodoptera frugiperda* and *Helicoverpa gelotopoeon* (Lepidoptera: Noctuidae) to the entomopathogenic nematode *Steinernema diaprepesi* (Rhabditida: Steinernematidae) under laboratory conditions. *Chilean Journal of Agricultural Research*, v. 74, n. 1, p. 123-126, 2014.

CAICEDO, A. M.; BELLOTI, A. C. Evaluación de parasitismo del nemátodo entomógeno *Steinernema carpocasiae* Weiser (Rhabditidae: Steinernematidae) y reconocimientos de nemátodos nativos asociados a *Cyrtomenus bergi* (Hemiptera: Cidnidae). *Revista Colombiana de Entomología*, v. 20, n.4, p. 241-246, 1994.

CAMPBELL, J. F.; LEWIS, E. E. Entomopathogenic nematode host search strategies. In: LEWIS, E. E.; CAMPBELL, J. F.; SUKHDEO, M. V. K. (Eds.). *The Behavioural Ecology of Parasites*. Wallingford: CABI Publishing, 2002. p. 13-38.

CAOILI, B. L.; LATINA, R. S.; SANDOVAL, R. F. C.; ORAJAY, J. I. Molecular identification of entomopathogenic nematode isolates from the Philippines and their biological control potential against lepidopteran pests of corn. *Journal of Nematology*, v. 50, p. 99-110, 2018.

CAPINERA, J. L.; PELISSIER, D.; MENOUT, G. S.; EPSKY, N. D. Control of black cutworm, *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera, Noctuidae), with entomogenous nematodes (Nematoda, Steinernematidae, Heterorhabditidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 52, p. 427-435, 1988.

CECCONELLO, D.M.; ROGGIA, S.; DONEZE, G.S.; MACEDO, M.F.; ALVES, V.S. Heterorhabditis amazonensis to Control *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) in Laboratory and Field Conditions. *Neotropical Entomology*, 2022. DOI: 10.1007/s13744-021-00936-5.

CHEN, G.; DUNPHY, G. B.; WEBSTER, J. M. Antifungal activity of two *Xenorhabdus* species and *Photorhabdus luminescens*, bacteria associated with the nematodes *Steinernema* species and *Heterorhabditis megidis*. *Biological Control*, v. 42, p. 157-162, 1994.

CICHE, T. A.; ENSIGN, J. C. For the insect pathogen *Photorhabdus luminescens*, which end of a nematode is out? *Applied Environmental Microbiology*, v. 69, p. 1890-1897, 2003.

CICHE, T. A.; KIM, K.; KAUFMANN-DASZCZUK, B.; NGUYEN, K. C. Q.; HALL, D. H.; Cell invasion and matricide during *Photorhabdus luminescens* transmission by *Heterorhabditis bacteriophora* nematodes. *Applied Environmental Microbiology*, v. 74, p. 2275-2287, 2008.

DALY, J. C.; FITTI, G. P. Resistance frequencies in overwintering pupae and the first spring generation of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae): selective mortality and immigration. *Journal of Economic Entomology*, v. 83, p. 1682-1688, 1990.

DEL VALLE, E. E.; FRIZZO, L. S.; LAX, P.; BONORA, J. S.; PALMA, L.; DESCH, N. P. B.; PIETROBON, M.; DOUCET, M. E. Biological control of *Diloboderus abderus* (Coleoptera: Scarabaeidae) larvae using *Steinernema rorum* CUL (Nematoda: Steinernematidae) and *Heterorhabditis bacteriophora* SMC (Nematoda: Heterorhabditidae). *Crop Protection*, v. 98, p. 184-190, 2017.

DILLMAN, A. R.; CHASTON, J. M.; ADAMS, B. J.; CICHE, T. A.; GOODRICH-BLAIR, H.; STOCK, S. P.; STERNBERG, P. W. An entomopathogenic nematode by any other name. *PLoS Pathogens*, v. 8, n. 3, p. e1002527, 2012.

DIVYA, K.; SANKAR, M.; MARULASIDDESHA, K. N.; SAMBASHIV, R.; KRUPANIDHI, K. Formulation technology of entomopathogenic nematode for the control of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. *Bioscience Discovery*, v. 2, n. 2, p. 174-180, 2011.

DOLINSKI, C. Controle de artrópodes-praga com nematoides entomopatogênicos. In: FONTES, E. M. G.; VALADARES-INGLIS, M. C. (Eds.). *Controle biológico de pragas da agricultura*. Brasília, DF: Embrapa, 2020. p. 275-288.

DOLINSKI, C.; MONTEIRO, C.; ANDALÓ, V.; LEITE, L. G. Studies on entomopathogenic nematodes in Brazil: past and future. *Nematoda*, v. 4, p. e102017, 2017.

DOUCET, M. M. A.; BERTOLOTI, M. A.; GIAYETTO, A. L.; MIRANDA, M. B. Host Range, Specificity, and Virulence of *Steinernema feltiae*, *Steinernema rorum*, and *Heterorhabditis bacteriophora* (Steinernematidae and Heterorhabditidae) from Argentina. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 73, p. 237-242, 1999.

DOUCET, M. M. A.; GIAYETO, A. Gama de huéspedes y especificidad en *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar (Heterorhabditidae: Nematoda).

Nematologia Mediterranea, v. 22, p. 171-178, 1994.

EBRAHIMI, L.; SHIRI, M.; DUNPHY, G. B. Effect of entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae*, on survival and plasma phenoloxidase activity of *Helicoverpa armigera* (Hb) (Lepidoptera: Noctuidae) in laboratory conditions. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, v. 28, n. 12, p. 1-4, 2018.

EBSSA, L.; FUZY, E. M.; BICKERTON, M. W.; KOPPENHÖFER, A. M. Host density effects on efficacy of entomopathogenic nematodes against white grub (Coleoptera: Scarabaeidae) species. *Biocontrol Science and Technology*, v. 22, n. 1, p. 117-123, 2012.

EBSSA, L.; KOPPENHÖFER, A. M. Efficacy and persistence of entomopathogenic nematodes for black cutworm control in turfgrass. *Biocontrol Science and Technology*, v. 21, p. 779-796, 2011.

EBSSA, L.; KOPPENHÖFER, A. M. Entomopathogenic nematodes for the management of *Agrotis ipsilon*: effect of instar, nematode species and nematode production method. *Society of Chemical Industry*, v. 68, p. 947-957, 2012.

FERREIRA, K. D. dos S.; FERREIRA, T. F.; SOUZA, R. M. de; DOLINSKI, C. Potential of entomopathogenic nematodes (Rhabditida) for control of pink pineapple mealybug adult females, *Dysmicoccus brevipes* (Hemiptera: Pseudococcidae), under laboratory conditions. *Nematoda*, v. 2, e092015, 2015.

ELMOWITZ, D. E.; EBSSA, L.; KOPPENHÖFER, A. M. Overwintering behavior of the entomopathogenic nematodes *Steinernema scarabaei* and *Heterorhabditis bacteriophora* and their white grub hosts. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, v. 148, p. 246-258, 2013.

FLORES-LARA, Y.; RENNECKAR, D.; FORST, S.; GOODRICH-BLAIR, H.; STOCK, S. P. Influence of nematode age and culture conditions on morphological and physiological parameters in the bacterial vesicle of *Steinernema carpocapsae* (Nematoda: Steinernematidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 95, p. 110-118, 2007.

FUXA, J. R.; RICHTER, A. R.; AGUDELO-SILVA, F. Effect of host age and nematode strain on susceptibility of *Spodoptera frugiperda* to *Steinernema feltiae*. *Journal of Nematology*, v. 20, n. 1, p. 91-95, 1988.

GARCIA, L. C.; RAETANO, C. G.; LEITE, L. G. Application technology for the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis indica* and *Steinernema* sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae and Steinernematidae) to control *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) in corn. *Neotropical Entomology*, v. 37, p. 305-311, 2008.

GAUGLER, R.; KAYA, H. K. *Entomopathogenic nematodes in biological control*. Boca Raton: CRC Press, 1990.

GEORGIS, R. Present and future prospects for entomopathogenic nematode products. *Biocontrol Science and Technology*, v. 2, n. 2, p. 83-99, 1992.

GIANNASI, A. O.; BRAMBILA, C. R.; ZART, M.; GUIDE, B. A.; ALVES, V. S. Assessment of entomopathogenic nematodes in *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera: Noctuidae) under laboratory and greenhouse conditions. *Revista Colombiana de Entomología*, v. 44, n. 1, p. 25-31, 2018.

GIRÓN-PABLO, S.; RUIZ-VEGA, J.; PÉREZ-PACHECO, R.; AQUINO-BOLAÑOS, T.; MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, L. Biological Control of *Phyllophaga vetula* (Horn) with Entomopathogenic Nematodes in Various Formulations and Moisture Conditions. *Southwestern Entomologist*, v. 40, n. 3, p. 511-517, 2015a.

GIRÓN-PABLO, S.; RUIZ-VEGA, J.; PÉREZ-PACHECO, R.; ORTIZ-HERNÁNDEZ, Y. D.; AQUINO-BOLAÑOS, T. Biological Control of *Phyllophaga vetula* (Horn), and Lethal Concentrations and Times of Entomopathogenic Nematodes. *Southwestern Entomologist*, v. 40, n. 2, p. 291-296, 2015b.

GLAZER, R.; NAVON, A. Activity and persistence of entomoparasitic nematodes tested against *Heliothis armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal Of Economic Entomology*, v. 83, n. 5, p. 1795-1800, 1990.

GOKTE-NARKHEDKAR, N.; BHANARE, N.; NAWKARKAR, P.; CHILLIVERI, P.; FAND, B.B.; KRANTHI, S. Parasitic potential of entomopathogenic nematode *Heterorhabditis indica* against two Lepidopteran insect pests of cotton, *Helicoverpa armigera* (Hubner) and *Spodoptera litura* (Fabricius). *Phytoparasitica*, v. 47, p. 31-41, 2019.

GORGADZE, O.; BAKHTADZE, G.; KERESLIDZE, M.; LORTKIPANIDZE, M. The efficacy of entomopathogenic agents against *Halyomorpha halys*. *International Journal of Current Research*, v. 9, p. 62177-62180, 2017.

GREWAL, P. S.; EHLERS, R.-U.; SHAPIRO-ILAN, D. I. (Eds.). *Nematodes as Biological Control Agents*. Wallingford: CABI, 2005. 505 p.

GUIDE, B. A.; SOARES, E. A.; ITIMURA, C. B.; ALVES, V. S. Entomopathogenic nematodes in the control of cassava root mealybug *Dysmicoccus* sp. (Hemiptera: Pseudococcidae). *Revista Colombiana de Entomología*, v. 42, n. 1, p. 16-21, 2016.

GUIDE, B. A.; ALVES, V. S.; FERNANDES, T. A. P.; MARCOMINI, M. C.; MENEGHIN, A. M.; NEVES, P. M. O. J. Pathogenicity and virulence of entomopathogenic nematodes against *Dichelops melacanthus* Dallas (Hemiptera: Pentatomidae). *Semina: Ciências Agrárias*, v. 40, n. 4, p. 1417-1426, 2019.

GULCU, B.; HODSON, A.; OMALEKI, V.; ROSS, A. B.; LEWIS, E. E. A biological control approach to reducing *Naupactus godmani* (Curculionidae) populations in citrus using entomopathogenic nematodes. *Crop Protection*, v. 115, p. 99-103, 2019.

GUO, J.; WU, S.; ZHANG, F.; HUANG, C.; HE, K.; BABENDREIER, D.; WANG, Z. Prospects for microbial control of the fall armyworm *Spodoptera*

frugiperda: a review. **BioControl**, v. 65, p. 647-662, 2020.

HIRAO, A.; EHLERS, R. U. Effect of temperature on the development of *Steinernema carpocapsae* and *Steinernema feltiae* Nematoda: Rhabditida in liquid culture. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 84, p. 1061-1067, 2009.

ISTKHAR; CHAUBEY, A. K. Challenging the larvae of *Helicoverpa armigera* and assessing the immune responses to nematode-bacterium complex. **Phytoparasitica**, v. 46, p. 75-87, 2018.

JAFFUEL, G.; SBAITI, I.; TURLINGS, T. C. Encapsulated entomopathogenic nematodes can protect maize plants from *Diabrotica balteata* larvae. **Insects**, v. 11, n. 27, p. 1-7, 2020.

JARAMILLO, R. M.; SAAVEDRA, G. M. Ensayos sobre el efecto del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis* sp. en el control de *Elasmopalpus lignosellus* en el cultivo de espárrago. **Arenagro Revista de la Asociación de Productores de terrenos de Chavimochic**, p.17-18, 2007.

JENSEN, P.; STRAUCH, O.; WYSS, U.; LUTTMANN, R.; EHLERS, R. O. Carbon dioxide triggers recovery from dauer juvenile stage in entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis* spp. **Nematology**, v. 2, p. 319-324, 2000.

KAJUGA, J.; HATEGEKIMANA, A.; YAN, X.; WAWERU, B. W.; LI, H.; LI, K.; YIN, J.; CAO, L.; KARANJA, D.; UMULISA, C.; TOEPFER, S. Management of white grubs (Coleoptera: Scarabaeidae) with entomopathogenic nematodes in Rwanda. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 28, n. 2, p. 1-13, 2018.

KAMARAJ, C.; RAHUMAN, A. A.; BAGAVAN, A. Screening for antifeedant and larvicidal activity of plant extracts against *Helicoverpa armigera* (Hübner), *Sylepta derogata* (F.) and *Anopheles stephensi* (Liston). **Parasitology Research**, v. 103, p. 1361-1368, 2008.

KAMMINGA, K. L.; DAVIS, J. A.; STOCK, P. S.; RICHTER, A. R. First report of a mermithid nematode infecting *Piezodorus guildinii* and *Acrosternum hilare* (Hemiptera: Pentatomidae) in the United States. **Florida Entomologist**, v. 95, n. 1, p. 214-217, 2012.

KARY, N. E.; GOLIZADEH, A.; DASTJERDI, H. R.; MOHAMMADI, D.; AFGHAHI, S.; OMRANI, M.; MORSHEDLOO, M. R.; SHIRZAD, A. A laboratory study of susceptibility of *Helicoverpa armigera* (Hübner) to three species of entomopathogenic nematodes. **Munis Entomology & Zoology**, v. 7, n. 1, p. 372-379, 2012.

KAYA, H. K. Soil Ecology. In: GAUGLER, R.; KAYA, H. K. (Eds.). **Entomopathogenic Nematodes in Biological Control**. Boca Raton: CRC Press, 1990. p. 93-116.

KOPPENHOFER, A. M.; COWLES, R. S.; COWLES, E. A.; FUZY, E. M. BAUMGARTNER, L. Comparison of neonicotinoid insecticides as synergists for entomopathogenic nematodes. **Biological Control**, v. 24, p. 90-97, 2002.

KOPPENHOFER, A. M.; FUZY, E. M. Early timing and new combinations to increase the efficacy of neonicotinoid entomopathogenic nematode (Rhabditida: Heterorhabditidae) combinations against white grubs (Coleoptera: Scarabaeidae). **Pest Management Science**, v. 64, p. 725-735, 2008.

KOPPENHOFER, A. M.; RODRIGUEZ-SAONA, C. R.; POLAVARAPU, S.; HOLDCRAFT, R. J. Entomopathogenic nematodes for control of *Phyllophaga georgiana* (Coleoptera: Scarabaeidae) in cranberry. **Biocontrol Science and Technology**, v. 18, n. 1, p. 21-31, 2008.

KUHLMANN, U.; VAN DER BURGT, W. A. C. M. Possibilities for biological control of the western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte, in Central Europe. **Biocontrol News and Information**, v. 19, n. 2, p. 59-68, 1998.

LEWIS, E. E. Behavioral ecology. In: GAUGLER, R. (Ed.) **Entomopathogenic nematology**. [S. l.]: CABI Publishing, 2002. p. 205-224.

LEWIS, E. E.; GAUGLER, R.; HARRISON, R. Entomopathogenic nematode host finding: response to host contact cues by cruise and ambush foragers. **Parasitology**, v. 105, p. 309-319, 1992.

LEWIS, E. E.; RICCI, M.; GAUGLER, R. Host recognition behavior predicts host suitability in the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae). **Parasitology**, v. 113, p. 573-579, 1996.

LEYVA-HERNÁNDEZ, H. A.; GARCÍA-GUTIÉRREZ, C.; RUÍZ-VEGA, J.; CALDERÓN-VÁZQUEZ, C. L.; LUNA-GONZÁLEZ, A.; GARCÍA-SALAS, S. Evaluation of the Virulence of *Steinernema riobrave* and *Rhabditis blumi* against third instar larvae of *Spodoptera frugiperda*. **Southwestern Entomologist**, v. 43, n. 1, p. 189-197, 2018.

LIESCH, P. J.; WILLIAMSON, R. C. Evaluation of Chemical Controls and Entomopathogenic Nematodes for Control of *Phyllophaga* White Grubs in a Fraser Fir Production Field. **Journal of Economic Entomology**, v. 103, n. 6, p. 1979-1987, 2010.

MAGNABOSCO, M. E. B.; ANDALÓ, V.; CARVALHO, F. J. Susceptibility of *Elasmopalpus lignosellus* pupae to entomopathogenic nematodes in maize. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 19, e1115, 2020.

MAPA. **Agrofit**: consulta aberta. 2022. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agro_fit_cons>. Acesso em: 03 mar. 2022.

MARTENS, E. C.; GOODRICH-BLAIR, H. The *Steinernema carpocapsae* intestinal vesicle contains a subcellular structure with which *Xenorhabditis nematophila* associates during colonization initiation. **Cellular Microbiology**, v. 7, p. 1723-1735, 2005.

MELO, E. L. M.; ORTEGA-OJEDA, C. A.; GAIGL, A.; EHLERS, R. U.; BELLOTTI, A. C. Evaluation of two commercial strains of entomonematodes as

- control agents of *Cyrtomenus bergi* Froeschner (Hemiptera: Cydnidae). *Revista Colombiana de Entomología*, v. 32, n. 1, p. 31-38, 2006.
- MELO, E. L. M.; ORTEGA, C. A. O.; GAIGL, A.; BELLOTTI, A. Evaluación de nematodos entomopatógenos para el manejo de *Phyllophaga bicolor* (Coleoptera: Melolonthidae). *Revista Colombiana de Entomología*, v. 36, n. 2, p. 207-212, 2010.
- MERTZ, N. R.; AGUDELO, E. J. G.; SALES, F. S.; MOINO JUNIOR, A. Effects of entomopathogenic nematodes on the predator *Calosoma granulatum* in the Laboratory. *Journal of Insect Behavior*, v. 28, p. 312-327, 2015.
- MIKAIA, N. EPNs *Steinernema carpocapsae* and *Heterorhabditis bacteriophora* for control of the brown marmorated stink bug (BMSB) *Halyomorpha halys* (Hemiptera, Pentatomidae). *Bulletin of the Georgian National Academy of Sciences*, v. 12, n. 3, 2018.
- MODIC, S.; ZIGON, P.; KOLMANIC, A.; TRDAN, S.; RAZINGER, J. Evaluation of the field efficacy of *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar (Rhabditida: Heterorhabditidae) and synthetic insecticides for the control of Western Corn Rootworm Larvae. *Insects*, v. 11, n. 202, p. 1-15, 2020.
- MOLYNEUX, A. S. Survival of infective juveniles of *Heterorhabditis* spp. and *Steinernema* spp. (Nematoda: Rhabditida) at various temperatures and their subsequent infectivity for insects. *Revue de Nématologie*, v. 8, p. 165-170, 1985.
- NANZER, S. L. L.; RECCHIA, G. H.; CHACON-OROZCO, J. G.; SILVA, R. S. A.; CARDOSO, J. F. M.; LEITE, L. G. Assessment of entomopathogenic nematodes and their symbiotic bacteria to control the stink bugs *Euschistus heros* and *Dichelops melacanthus* (Heteroptera: Pentatomidae) in the soybean-corn succession system. *Turkish Journal of Zoology*, v. 45, p. 356-371, 2021.
- NAVON, A.; NAGALAKSHMI, V. K.; LEVSKI, S.; SALAME, L.; GLAZER, I. Effectiveness of Entomopathogenic Nematodes in an Alginate Gel Formulation Against Lepidopterous Pests. *Biocontrol Science and Technology*, v. 12, p. 737-746, 2002.
- NEGRISOLI JR., A. S.; GARCIA, M. S.; BARBOSA-NEGRISOLI, C. R. C. Compatibility of entomopathogenic nematodes (Nematoda: Rhabditida) with registered insecticides for *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) under laboratory conditions. *Crop Protection*, v. 29, p. 545-549, 2010a.
- NEGRISOLI JR., A. S.; GARCIA, M. S.; BARBOSA-NEGRISOLI, C. R. C.; BERNARDI, D.; SILVA, A. Efficacy of entomopathogenic nematodes (Nematoda: Rhabditida) and insecticide mixtures to control *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) in corn crops. *Crop Protection*, v. 29, p. 677-683, 2010b.
- PANIZI, A. R.; BUENO, A. F.; SILVA, F. A. C. Insetos que atacam Vagens e grãos.. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. Soja: Manejo Integrado de Insetos e outros Artrópodes-praga. Brasília DF: Embrapa, 2012. p. 335-420.
- PERVEZ, R.; ALI, S. S. Infectivity of *Steinernema mushtaqi* (Rhabditida: Steinernematidae) against insect pests and their mass production. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, v. 44, n. 14, p. 1352-1355, 2011.
- PUSHNYA, M.; RODIONOVA, E.; SNESAREVA, E. Development of the elements of the biological system for protecting crops against the southern green stink bug *Nezara viridula* L. (Hemiptera: Pentatomidae) in Krasnodar Krai. *BIO Web of Conferences*, v. 21, 00037, 2020.
- QUINTERO-MARIN, P.; CAICEDO, A. M.; MONTOYA-LERMA, J.; GAIGL, A. Evaluation of three native entomopathogenic nematodes (Rhabditidae) against third instar larvae of *Phyllophaga menetriesi* (Coleoptera: Scarabaeidae). *International Journal of Tropical Insect Science*, v. 26, n. 4, p. 233-238, 2006.
- RAULSTON, J. R.; PAIR, S. D.; LOERA, J.; CABANILLAS, H. E. Preupal and Pupal Parasitism of *Helicoverpa zea* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) by *Steinernema* sp. in Cornfields in the Lower Rio Grande Valley. *Journal Economic Entomology*, v. 85, n. 5, p. 1666-1670, 1992.
- SAN-BLAS, E.; CAMPOS-HERRERA, R.; DOLINSKI, C.; MONTEIRO, C.; ANDALÓ, V.; GARRIGÓS LEITE, L.; RODRÍGUEZ, M. G.; MORALES-MONTERO, P.; SÁENZ-APONTE, A.; CEDANO, C.; DEL VALLE, E.; LÓPEZ-NUÑEZ, J. C.; DOUCET, M. E.; LAX, P.; NAVARRO, P. D.; BÁEZ, F.; LLUMIQUINGA, P.; RUIZ-VEGA, J.; GUERRA-MORENO, A.; STOCK, S. P. Entomopathogenic nematology in Latin America: A brief history, current research and future prospects. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 165, p. 22-45, 2019.
- SANTOS, V.; ÁVILA, C. J.; PORTELA, A. C. V.; RIBEIRO, J. F. Ocorrência e aspectos biológicos de *Cyclocephala forsteri* Endrodi, 1963 (Coleoptera: Scarabaeidae) no Estado de Mato Grosso do Sul. In: REUNIÃO SULBRASILEIRA SOBRE PRAGAS DE SOLO, 10., Dourados, 2007. Pragas- Solo-Sul: Anais e Ata... Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2007. 1 CD-ROM. (Embrapa Agropecuária Oeste. Documentos, 88).
- SANTOS, V.; LEITE, L. G.; MOINO JUNIOR, A. Controle de *Diabrotica speciosa* com entomopatógenos. In: NAVA, D. E.; ÁVILA, C. J.; PINTO, A. S. (Eds.). *Diabrotica speciosa*. Piracicaba: Occasio, 2016. p. 121-136.
- SANTOS, V.; MOINO JR., A.; ANDALÓ, V.; MOREIRA, C. C.; OLINDA, R. A. Virulence of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) for the control of *Diabrotica speciosa* Germar (Coleoptera: Chrysomelidae). *Ciência e Agrotecnologia*, v. 35, p. 1149-1156, 2011.
- SARTORI, J. E.; ROSA, J. M. O.; WILCKEN, S. R. S.; DE ANGELIS, S.; AGUILLERA, M. M. Suscetibilidade de *Scaptocoris castanea* (Hemiptera: Cydnidae) a *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae) em condições de laboratório. In: REUNIÃO SUL BRASILEIRA DE PRAGAS DE SOLO, 8., 2001, Londrina. *Anais... Londrina: Embrapa Soja*, 2001. p. 231-232. (Embrapa Soja. Documentos, 172).
- SEENIVASAN, N.; SIVAKUMAR, M. Screening for environmental stress-tolerant entomopathogenic nematodes virulent against cotton bollworms.

Phytoparasitica, v. 42, p. 165-177, 2014.

SHAPIRO-ILAN, D.; HAZIR, S.; GLAZER, I. Basic and Applied Research: Entomopathogenic Nematodes. In: LACEY, L. A. (ED.). **Microbial Control of Insects and Mite Pests**. London: Elsevier, 2017.

SOUZA, L. M.; MOINO JR, A.; MERTZ, N. R.; SILVA, M. A. T.; SOARES, F. M.; ZANETTI, R. Nematoides entomopatogênicos e compatibilidade com imidaclopride visando ao controle de *Spodoptera frugiperda* em viveiro florestal. **Nematologia Brasileira**, v. 36, p. 32, 2012.

STOCK, P. Diversity, Biology and Evolutionary Relationships. In: CAMPOS-HERRERA, R. **Nematode Pathogenesis of Insects and Other Pests**. [S. l.: S. n.], 2015. 532 p.

STOCK, S. P. Capacidad patogénica del nematodo entomopatógeno *Heterorhabditis argentinensis* (Nemata: Heterorhabditidae) frente a insectos asociados con cultivos de alfalfa. **Revista de la Sociedad Entomológica Argentina**, v. 55, p. 175-177, 1996.

STOKWE, N. F.; MALAN, A. P. Susceptibility of the obscure mealybug, *Pseudococcus viburni* (Signoret) (Pseudococcidae), to South African isolates of entomopathogenic nematodes. **International Journal of Pest Management**, p. 1-10, 2015.

STUART, R. J.; POLAVARAPU, S.; LEWIS, E. E.; GAUGLER, R. Differential susceptibility of *Dysmicoccus vacinni* (Homoptera: Pseudococcidae) to entomopathogenic nematodes (Rhabditia: Heterorhabditidae and Steinernematidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 90, n. 4, p. 925-932, 1997.

TOTH, S.; SZALAI, M.; KISS, J.; TOEPFER, S. Missing temporal effects of soil insecticides and entomopathogenic nematodes in reducing the maize pest *Diabrotica virgifera virgifera*. **Journal of Pest Science**, v. 93, p. 767-781, 2020.

VASHISTH, S.; CHANDEL, Y. S.; CHANDEL, R. S. Biological control potential of North West Himalayan strains of heterorhabditid nematodes against the turnip moth, *Agrotis segetum* (Denis & Schiffmuller) (Lepidoptera: Noctuidae). **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 28, n. 37, p. 1-8, 2018a.

VASHISTH, S.; CHANDEL, Y. S.; CHANDEL, R. S. Comparative efficacy of indigenous heterorhabditid nematodes from north western Himalaya and *Heterorhabditis indica* (Poinar, Karunakar & David) against the larvae of *Helicoverpa armigera* (Hubner). **International Journal of Pest Management**, p. 1-7, 2018b.

VIANA, P. A. (ed.). **Principais pragas subterrâneas do milho no Brasil**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2011. 61 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Documentos, 129).

VITERI, D. M.; LINARES, A. M.; FLORES, L. Use of the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* in combination with low-toxicity insecticides to control fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. **Florida Entomologist**, v. 101, n. 2, p. 327-329, 2018.

VYAS, R. V.; PATEL, R. V.; PATEL, P.; PATEL, D. J. Efficacy of Entomopathogenic Nematode against *Helicoverpa armigera* on Pigeonpea. **International Chickpea and Pigeonpea Newsletter**, n. 9, p. 43-44, 2002.

YADAV, Y. S.; PARIEAR, A.; SIDDIQUI, A. U. Studies on bioefficacy of entomopathogenic nematode against the *Helicoverpa armigera*. **Journal of Phytological Research**, v. 21, n. 1, 131-134, 2008.

YAN, X.; WANG, X.; HAN, R.; QIU, X. Utilisation of entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis* spp. and *Steinernema* spp., for the control of *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera, Noctuidae) in China. **Nematology**, v. 16, p. 31-40, 2014.

YE, W.; TORRES-BARRAGAN, A.; CARDOZA, Y. J. *Oscheius carolinensis* n. sp. (Nematoda: Rhabditidae), a potential entomopathogenic nematode from vermicompost. **Nematology**, v. 12, p. 121-135, 2010.

YUKSEL, E.; CANHILAL, R. Evaluation of local isolates of entomopathogenic nematodes for the management of black cutworm, *Agrotis ipsilon* Hufnagel (Lepidoptera: Noctuidae). **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 28, n. 82, p. 1-7, 2018.

ZART, M.; MACEDO, F. M.; RANDO, J. S. S.; DONEZE, G. S.; BRITO, C. P.; POLETTI, R. S.; ALVES, V. S. Performance of entomopathogenic nematodes on the mealybug, *Dysmicoccus brevipes* (Hemiptera: Pseudococcidae) and the compatibility of control agents with nematodes. **Journal of Nematology**, v. 53, p. 1-10, 2021.

ZHANG, C.; LIU, J.; XU, M.; SUN, J.; YANG, S.; AN, X.; GAO, G.; LIN, M.; LAI, R.; HE, Z.; WU, Y.; ZHANG, K. *Heterorhabditoides chongmingensis* gen. nov., sp. nov. (Rhabditida: Rhabditidae) a novel member of the entomopathogenic nematodes. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 98, p. 153-168, 2008.

ZHANG, C.-X.; YANG, S.-Y.; XU, M.-X.; SUN, J.; LIU, H.; LIU, J.-R.; LIU, H.; KAN, F.; SUN, J.; LAI, R.; ZHANG, K.-Y. *Serratia nematodiphila* sp. nov., associated symbiotically with the entomopathogenic nematode *Heterorhabditoides chongmingensis* (Rhabditida: Rhabditidae). **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 59, n. 7, p. 1603-1608, 2009.

Compatibilidade no uso de bioinsumos e insumos sintéticos no manejo da cultura da soja

Adeny de Freitas Bueno

Geraldo Andrade Carvalho

Marco Antonio Nogueira

Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros

Fernanda Carvalho Lopes de Medeiros

Mariangela Hungria

Daniel Mendes Ardisson-Araujo

Bergmann Morais Ribeiro

Daniel Ricardo Sosa-Gómez

Edson Hirose

Importância

A sustentabilidade agrícola tem sido um tema de grande preocupação mundial, que ganha cada vez mais importância à medida que as discussões sobre esse assunto ganham destaque nos mais diferentes fóruns ao redor do mundo. É indiscutível que entre as estratégias de manejo agrícola disponíveis, o uso de bioinsumos (insumos de origem biológica) está entre as mais sustentáveis, principalmente para as grandes *commodities* como a soja. Apenas no manejo integrado de pragas e doenças, o uso do controle biológico aumentativo (ou aplicado) cresce entre 10% e 20% ao ano em todo o mundo, em decorrência principalmente da exigência do mercado consumidor por produtos mais seguros e com menor uso de agrotóxicos sintéticos (van Lenteren et al., 2018). No campo da nutrição e promoção do crescimento de plantas isso não é diferente. Inoculantes com *Bradyrhizobium* spp. para fixação biológica de nitrogênio (FBN) são adotados por cerca de 80% dos produtores brasileiros de soja, além da coinoculação com *Azospirillum* spp., que já é usada em mais de 25% da área cultivada com essa leguminosa no país. Outros tipos de inoculantes também vêm sendo integrados ao sistema de produção, como os mobilizadores de fósforo à base de *Bacillus* spp., ou à base de fungos micorrízicos, dentre outros.

O crescente desenvolvimento e oferta de novos produtos de origem biológica no mercado vêm fortalecendo o portfólio de bioinsumos disponíveis para o sistema de produção. Entretanto, é de se esperar que nem os insumos biológicos ou os sintéticos quando utilizados isoladamente consigam um resultado satisfatório no controle de pragas, doenças e plantas daninhas, ou no suprimento adequado de nutrientes

às plantas. Na maioria das vezes, é necessário combinar diferentes insumos biológicos e sintéticos para se obter os melhores resultados. Assim, é crucial que os bioinsumos empregados na sojicultura sejam compatíveis não apenas entre si, mas também com produtos sintéticos, sem o comprometimento da eficiência e/ou sobrevivência do(s) organismo(s) benéfico(s) componente(s) do(s) bioinsumo(s) (Santos et al., 2006; Santos et al., 2021).

Várias pragas, patógenos e plantas daninhas podem prejudicar a cultura da soja, desde antes da emergência das plântulas até a colheita (Mcfadyen, 1998; Hoffmann-Campo et al., 2000; Sosa-Gómez et al., 2006; Czapak et al., 2013; Specht et al., 2013; O'Brien, 2017). Nesse cenário, é importante salientar que os produtos sintéticos ainda são, em geral, a primeira medida de defesa agropecuária utilizada pelo sojicultor no controle desses organismos indesejados na lavoura. Isto ocorre em função da facilidade de aplicação, rápida e efetiva ação, associadas ao baixo custo desses químicos (Bueno et al., 2017). Entretanto, os produtos (inseticidas, fungicidas, herbicidas, fertilizantes, entre outros) mais apropriados são aqueles que combinam boa eficiência e menor impacto possível aos organismos benéficos de ocorrência natural na lavoura (Torres; Bueno, 2018) ou ainda, mais especificamente, aos principais bioinsumos utilizados na cultura. Além disso, o uso de produtos químicos deve ser racional, pois sua utilização de forma indiscriminada pode causar impactos negativos ao ambiente e intoxicações ao homem e aos animais (Picanço; Guedes, 1999).

A compatibilidade entre insumos químicos e biológicos é de grande importância na preservação das espécies benéficas que habitam os agroecossistemas. Exemplo disso é a necessidade da compatibilidade de inoculantes à base de *Bradyrhizobium* spp., *Azospirillum* spp. e, mais recentemente, *Bacillus* spp. que são usualmente disponibilizados às plantas via tratamento de sementes com inseticidas, fungicidas e micronutrientes (Santos et al., 2021). Entre os benefícios do uso compatível de bioinsumos com insumos sintéticos está a maior sustentabilidade do sistema produtivo, com surtos de pragas menos frequentes (em consequência do equilíbrio do agroecossistema), redução dos custos de aplicação, maior eficiência da fixação biológica de nitrogênio e promoção de crescimento de plantas. Esses benefícios irão propiciar maior lucratividade ao sojicultor e contribuir para uma agricultura mais sustentável.

Neste capítulo, é discutida a possibilidade do uso conjunto de bioinsumos e insumos sintéticos. Questões relacionadas à seletividade dos insumos agrícolas aos organismos benéficos na cultura da soja são abordadas. A seletividade está diretamente relacionada aos efeitos de produtos sintéticos sobre agentes de controle biológico de pragas e doenças e a compatibilização de insumos biológicos e químicos visando o manejo sustentável da cultura da soja.

Seletividade

O termo seletividade refere-se ao efeito do produto químico sobre organismos benéficos e ocorre devido às diferenças fisiológicas, comportamentais e/ou ecológicas entre as espécies de organismos (Carvalho et al., 2021). Quando um composto ou mistura de produtos são aplicados sobre determinada praga-alvo e causa baixa toxicidade sobre um organismo benéfico, esses são considerados seletivos. Sendo assim, as maneiras pelas quais um produto químico pode ou não ser compatível com um bioinsumo não é única, mas, em geral, podem ser separadas em seletividade fisiológica ou seletividade ecológica.

Seletividade fisiológica é quando um insumo químico, em determinada concentração, ao entrar em contato com o organismo benéfico, seja um defensivo biológico ou um inoculante, mostra-se inofensivo ou causa baixa toxicidade, permitindo que o mesmo continue a desempenhar sua função esperada. Esse tipo de seletividade é inerente ao produto fitossanitário e está relacionada à menor susceptibilidade do bioinsumo ao produto utilizado (Bueno et al., 2012; Carvalho et al., 2019; Carvalho et al., 2021), visto que pode ocorrer ausência de um sítio de ação do produto químico no mesmo. No caso dos inoculantes, especialmente de produtos químicos aplicados simultaneamente no tratamento de sementes, a compatibilidade vai depender do princípio ativo, da formulação e do tempo de contato com o microrganismo (Santos et al., 2021).

Produtos fitossanitários que não apresentam seletividade fisiológica podem ainda ser utilizados de forma seletiva, sendo isso conhecido como seletividade ecológica. A seletividade ecológica é o emprego de insumos químicos de maneira que minimize a sua exposição aos organismos benéficos (ou no caso, o bioinsumo) e que, ao mesmo tempo, mantenha a eficiência dos insumos químicos e biológicos envolvidos (Santos et al., 2006; Carvalho et al., 2019; Carvalho et al., 2021). A seletividade ecológica é subdividida de acordo com a forma pela qual a exposição ao produto químico é diferenciada entre as espécies benéficas e daninhas, podendo ser temporal ou espacial (Bueno et al., 2012). Não aplicar fungicidas contra a ferrugem-asiática da soja durante o período vegetativo da cultura, quando não há relatos de focos da doença na lavoura, é um exemplo de seletividade ecológica temporal. Durante o estágio vegetativo, a ocorrência da ferrugem-asiática não é generalizada e o início das aplicações de fungicidas pode ser adiada de maneira a preservar a ocorrência (natural ou aplicada) de organismos benéficos que controlam pragas e doenças da soja (principalmente espécies de fungos benéficos). Um exemplo de seletividade ecológica espacial é o uso de inseticidas para controle de percevejos apenas na bordadura da lavoura de soja no início da infestação da praga. Aplicações localizadas de produtos fitossanitários baseadas em mapas de infestação podem preservar as espécies benéficas nas áreas que não foram contaminadas e, dessa forma, mesmo não sendo seletivos, podem apresentar seletividade ecológica espacial (Bueno et al., 2021).

Uma alternativa para superar a incompatibilidade com produtos fitossanitários empregados no tratamento de sementes, ou mesmo produtos biológicos incompatíveis para inoculantes, é a separação espacial por meio da inoculação via sulco de semeadura (Campo et al., 2010; Zilli et al., 2010). Nesse caso, os inoculantes são aplicados na forma de calda no sulco de plantio no momento da distribuição das sementes, enquanto que os produtos incompatíveis com os inoculantes são aplicados via sementes em um exemplo de seletividade (ou compatibilidade) espacial. Assim, qualquer produto incompatível com o inoculante, seja químico ou biológico, não entrará em contato direto com o mesmo e preservará a sobrevivência das células e a sua funcionalidade.

Tratamento de sementes (TS)

Os produtos usados em TS apresentam ação sistêmica, sendo facilmente translocados através dos tecidos vasculares da planta (Dively; Kamel, 2012; Goulson, 2013). No caso de inseticidas e fungicidas, o TS consiste no uso de químicos com baixa lipofilicidade, tendo coeficiente de partição octanol/água (Kow) normalmente abaixo de 4,0 (Cloyd; Bethke, 2011). Dentre os inseticidas utilizados em TS, os principais pertencem ao grupo químico dos neonicotinoides, que possui como ingredientes ativos o

tiametoxam, a clotianidina e o imidacloprido, que atuam nos receptores nicotínicos da acetilcolina, causando hiperatividade seguida de colapso do sistema nervoso, o que pode acarretar efeitos letal e subletais sobre os organismos (Tomizawa; Casida, 2005) e, mais recentemente, as diamidas, representadas principalmente pelo clorantniliprole, que age como modulador do receptor de rianodina, bloqueando a contração muscular do inseto. Uma vez ingerido, provoca a depleção de Ca^{2+} nas células musculares, causando a paralisação da alimentação, letargia, paralisia muscular e morte (Lahm et al., 2007). Além dos insumos químicos, micronutrientes ou mesmo produtos biológicos e as mais variadas combinações entre insumos químicos e biológicos têm sido também utilizados em TS.

Atualmente, o uso do TS em soja compreende mais de 98% do total de sementes empregadas na implantação das lavouras brasileiras, dos quais pouco mais de 25% recebem tratamento industrial de sementes (TIS), enquanto o restante recebe o tratamento na propriedade, também denominado “on farm” (Balbinot Júnior et al., 2017; Richetti; Goulart, 2018). Isto é em decorrência principalmente da eficiência e facilidade do uso de TS no controle de pragas e doenças que atacam sementes e plântulas na fase inicial das lavouras (Bradshaw et al., 2008). No período de 2008 a 2012, somente nos Estados Unidos, em 30% da área cultivada com soja foram utilizadas sementes tratadas com neonicotinoides (Epa, 2014), ilustrando a parcela significativa dos insumos agrícolas utilizados na forma de TS.

A) Possíveis impactos de produtos para o TS sobre bioinsumos

Os produtos químicos em TS podem apresentar efeitos distintos sobre os organismos benéficos dependendo da formulação, princípio ativo, mecanismo de ação, forma e sequência de aplicação (Santos et al., 2021). Entretanto, em comparação com aplicações foliares, a aplicação via TS reduz a contaminação ambiental, pois diminui a quantidade de ingrediente ativo utilizada e a exposição do aplicador (Taylor et al., 2001), além de reduzir a exposição dos organismos não-alvos, por meio da seletividade ecológica (Hull; Beers, 1985). Portanto, o TS é uma importante maneira de se aplicar insumos agrícolas de forma seletiva. Consequentemente, essa modalidade de aplicação tem sido empregada para reduzir o impacto ambiental causado pela pulverização, principalmente de químicos, na parte aérea das plantas (Hodgson et al., 2012; Nuyttens et al., 2013).

B) Compatibilidade de insumos via tratamento de sementes e agentes de controle biológico de pragas e doenças

O uso de produtos químicos em TS pode ser incompatível com outros bioinsumos utilizados na cultura da soja, em especial, aos agentes de controle biológico de pragas e doenças. Em relação aos produtos biológicos registrados para o manejo de doenças, existem produtos formados por bactérias e fungos. Dentre os produtos à base de bactérias estão os que possuem *Bacillus* spp. como ingredientes ativos, enquanto que entre os produtos à base de fungos destacam-se *Trichoderma* spp., *Pupureocillium lilacinum* (syn. *Paecilomyces lilacinus*) e *Pochonia chlamydosporia* que são registrados para o manejo de doenças radiculares causadas por fungos e nematoides, além de doenças causadas por fungos. Esses bioinsumos podem ser negativamente impactados pelo uso de químicos em TS. Para mitigar esses efeitos negativos tem sido crescente a adoção e aplicação dos produtos biológicos no sulco de semeadura por

meio de equipamentos que aplicam o produto na de jato dirigido. A aplicação exclusiva do produto biológico e maior volume de calda (em torno de 40 L/ha) utilizada na aplicação no sulco de semeadura, permite, em geral, maior compatibilidade entre o insumo biológico aplicado no sulco e o químico aplicado em TS; porém, ainda são escassos os trabalhos que avaliaram essa alternativa.

A concentração dos produtos em TS nos tecidos aéreos da planta pode variar em função das propriedades físico-químicas do composto utilizado e com a idade da planta. Isso impacta diretamente na compatibilidade do químico aplicado via TS e o agente de controle biológico aplicado na parte aérea da planta. Laurent; Rathahão (2003) relataram que a concentração de imidacloprido usado em TS reduziu pela metade em cada par sucessivo de folhas do girassol, sendo que os resíduos foram 50 vezes mais concentrados nos cotilédones do que nas primeiras folhas verdadeiras. Assim, efeitos letal e subletais podem ocorrer também sobre predadores e parasitoides presentes na parte aérea da planta.

Efeitos subletais são em muitos casos negligenciados, apesar de terem grande impacto na dinâmica populacional e serviços ecológicos dos organismos benéficos (Desneux et al., 2007; Biondi et al., 2013; Planes et al., 2013). Efeitos de inseticidas sistêmicos aplicados via solo ou em TS foram observados sobre insetos predadores como *Coleomegilla maculata* (Smith; Krischik, 1999), *Harmonia axyridis* (Oliveira et al., 2019; Sâmia et al., 2019), *Chrysoperla carnea* (Gontijo et al., 2014), *Chrysoperla externa* (Sâmia et al., 2019) e *Orius insidiosus* (Gontijo et al., 2015), e também sobre parasitoides, incluindo *Lysiphlebus testaceipes* (Moscardini et al., 2014), por exemplo.

Em predadores, o risco de exposição a inseticidas sistêmicos aplicados via solo ou em TS é maior para aqueles que apresentam comportamento zoofitófago, como o percevejo predador da subfamília Asopinae, *Podisus nigrispinus* (Torres et al., 2010). Esse predador é considerado generalista (Shapiro; Legaspi, 2006), com ampla distribuição geográfica, sendo a espécie do gênero mais comumente encontrada em diversos sistemas agrícolas (Torres et al., 2006) e pode estar presente durante todo ciclo da cultura da soja (Bueno et al., 2012), predando preferencialmente ovos e ninfas de *Nezara viridula* e *Piezodorus guildinii* (Saini, 1994) e as lagartas desfolhadoras *Anticarsia gemmatalis* (Saini et al., 1997) e *Chrysodeixis includens* (Moraes et al., 1991).

Nos últimos anos, pesquisas têm revelado com mais detalhes os efeitos de inseticidas sistêmicos sobre organismos benéficos (Goulson, 2013; Main et al., 2014), mas ainda são poucas as informações a respeito dos efeitos de inseticidas sobre a comunidade de artrópodes pragas e de inimigos naturais chaves para serem utilizadas em programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP), especialmente em condições brasileiras. O conhecimento dos potenciais riscos do uso de inseticidas sistêmicos sobre esses organismos permitirá elaborar estratégias de controle de pragas mais eficientes e sustentáveis.

C) Inoculação de sementes

Como no Brasil o uso de inoculantes via TS é predominante, é grande a preocupação quanto à compatibilidade da inoculação com outros produtos também empregados em TS, sejam químicos ou biológicos. A compatibilidade em TS é importante não apenas quando se usam produtos químicos e biológicos, mas também no uso conjunto de múltiplos bioinsumos. Por exemplo, nem todos os produtos biológicos são compatíveis com os inoculantes utilizados em soja, exigindo testes prévios de

compatibilidade para determinação da existência ou não de efeitos antagônicos. Os ingredientes ativos dos produtos ou mesmo algum constituinte de suas formulações, como solventes, conservantes, corantes, ou veículos, podem ser tóxicos às células de *Bradyrhizobium* spp. ou mesmo de *Azospirillum* spp. prejudicando a sobrevivência desses microrganismos, o que pode limitar os seus benefícios à cultura (Hungria et al., 2015; Rodrigues et al., 2020; Santos et al., 2020; Santos et al., 2021). Em algumas situações, não há efeito tóxico dos componentes da formulação, mas valores de pH e salinidade das formulações também podem inviabilizar as bactérias contidas nos inoculantes, o que pode diminuir a eficiência do estabelecimento da simbiose com *Bradyrhizobium* spp. e reduzir a nodulação, a ocupação nodular por bactérias eficientes e, conseqüentemente, diminuir a eficiência do processo de FBN para suprir as necessidades da planta (Araujo et al., 2017; Santos et al., 2021).

A incompatibilidade de *Bradyrhizobium* spp. com outros produtos empregados em TS é mais evidente quando estes produtos são aplicados ao mesmo tempo que os inoculantes, ou quando o inoculante é aplicado em sementes antes do químico ter secado sobre suas superfícies. Outro agravante, é o fato de que em TS empregam-se pós-secantes para facilitar a rápida secagem da calda aplicada sobre as sementes, o que pode contribuir para desidratar as células de *Bradyrhizobium* spp. caso estas entrem em contato com esses pós-secantes, o que resulta em baixa sobrevivência do microrganismo inoculado. Em locais em que a população estabelecida de *Bradyrhizobium* spp. no solo é pequena, fato comum em áreas de primeiro ano de cultivo de soja ou não cultivadas com a cultura por longo tempo, como áreas de reforma de canaviais, pastagens e reflorestamentos, os efeitos negativos de produtos incompatíveis com os inoculantes são mais evidentes. Esses efeitos são ainda agravados em solos arenosos (Hungria; Nogueira, 2019; Hungria et al., 2020), o que pode ser atribuído aos menores teores de matéria orgânica e ao menor tamponamento dos solos de textura leve.

A combinação de produtos empregados em TS de soja causa redução da viabilidade das células do *Bradyrhizobium* spp. inoculado na ordem de 20% após 2 h de inoculação, e mais de 60% após 24 h, alcançando 95%. Em casa de vegetação, a redução da nodulação atingiu 27% e o N acumulado na parte aérea em R2 diminuiu 19%. No campo, os efeitos variaram com os produtos químicos empregados, com o tipo de solo e o histórico de cultivo de soja na área, mas houve redução da nodulação, produtividade de grãos e N total acumulado nas plantas nas combinações mais incompatíveis (Campo et al., 2009).

Uma maneira de atenuar os efeitos negativos de produtos fitossanitários aplicados às sementes de soja sobre as células de *Bradyrhizobium* spp. é o uso de polímeros protetores (Sandini et al., 2019). Essas substâncias apresentam propriedades físico-químicas que protegem as células bacterianas de estresses, como a dessecação (Cortés-Patiño; Bonilla, 2015) e toxicidade (Sandini et al., 2018) provocadas por alguns produtos químicos, o que favorece a sobrevivência celular e o melhor estabelecimento da simbiose. Assim, o uso de polímeros protetores pode atenuar os efeitos negativos desses produtos sobre os inoculantes aplicados às sementes, favorecendo a nodulação e, conseqüentemente, o suprimento adequado de nitrogênio para a soja (Sandini et al., 2019).

Técnicas alternativas de inoculação via sementes têm surgido com a possibilidade de antecipação dessa prática em alguns dias da semeadura, também conhecida como pré-inoculação (Anguinoni et al., 2017; Araujo et al., 2017; Hungria et al., 2020). Os inoculantes desenvolvidos para essa finalidade são

popularmente chamados “longa vida” e recebem em suas formulações, ou adicionalmente durante a inoculação, protetores que auxiliam no aumento da longevidade das bactérias do inoculante frente a condições estressantes, dentro de valores satisfatórios, por períodos que podem chegar até 60 dias ou mais em condições ideais de armazenamento. Entretanto, frequentemente constata-se que a inoculação antecipada de *Bradyrhizobium* spp. em sementes de soja tratadas com diferentes fungicidas e inseticidas reduz o número de células viáveis das bactérias inoculadas após 10 dias (Silva et al., 2019). Rodrigues et al. (2020) verificaram que a exposição de sementes a produtos fitossanitários reduziu o número de células viáveis das bactérias em 80 % aos 15 dias de inoculação antecipada, sendo que não houve recuperação de células viáveis aos 30 dias após a inoculação. É preciso levar em consideração que as diversas combinações de produtos empregados em TS e condições de armazenamento, diferentes daquelas em que os inoculantes foram testados, podem resultar em recuperação de células muito abaixo do número mínimo recomendado, de 80.000 a 100.000, por semente no momento da semeadura (Hungria; Nogueira, 2019), para uma inoculação que visa fornecer 1.200.000 células viáveis por semente (Hungria et al., 2017). Nesse caso, é necessário observar o registro do inoculante junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento para essa finalidade e seguir estritamente as recomendações do fabricante em termos de produtos aplicados em TS, tempo e condições de armazenamento das sementes tratadas. A sobrevivência de células na superfície das sementes tratadas também pode ser prejudicada devido à ocorrência de período seco após a semeadura ou condições de altas temperaturas (Hungria et al., 2020).

Práticas agronômicas inadequadas, como a semeadura em condições de solo extremamente secas (conhecida popularmente como semeadura no pó), também comprometem a sobrevivência das bactérias inoculadas, o que é agravado pela adição de produtos em TS. Essa condição de semeadura equivale a armazenar as sementes em um ambiente seco e quente, o que compromete não apenas a sobrevivência das células inoculadas, mas também a qualidade das sementes. O ideal é semear em condições adequadas de umidade do solo e realizar uma análise de recuperação de células antes da semeadura, em laboratório capacitado, para confirmar se a concentração mínima de células viáveis de *Bradyrhizobium* spp. está presente nas sementes submetidas à inoculação antecipada.

Embora o número adequado de células de *Bradyrhizobium* spp. possa ainda ser recuperado de sementes tratadas antecipadamente com produtos químicos, pode haver alterações morfológicas e/ou fisiológicas das células expostas a essas condições estressantes. Colônias de *Bradyrhizobium* spp. com menor diâmetro foram observadas após a exposição a produtos químicos em TS, mas essa alteração foi revertida depois que as colônias foram novamente cultivadas, sugerindo que a alteração foi apenas fisiológica e não houve, pelo menos aparentemente, alteração genética das células expostas ao estresse causado pelos produtos químicos. Essas mesmas colônias foram inoculadas em soja em casa de vegetação e não houve alteração da nodulação e nem de outras variáveis relacionadas à simbiose, em comparação a isolados que não foram expostos aos produtos. Entretanto, é importante mencionar que ensaios em casa de vegetação para esta finalidade podem não refletir o desempenho em condições de campo. Nessa última condição, foi constatado que a exposição das bactérias inoculadas aos produtos químicos diminuiu a produtividade e a concentração de N nos grãos de soja, indicando prejuízos à FBN (Rodrigues et al., 2020).

D) Tratamento de sementes e seletividade ecológica

Embora o uso de produtos químicos em TS continue sendo ainda mais seletivo e, portanto, menos impactante quando comparado à aplicação foliar, o risco potencial de TS para organismos benéficos tornou-se recentemente um tema de interesse e de controvérsias (Sanchez-Bayo et al., 2013). Em algumas pesquisas em soja, milho e canola foi questionado o benefício econômico de TS como uso preventivo (Royer et al., 2005; Wilde et al., 2007; Seagraves; Lundgren, 2012), visto que esses organismos podem ser expostos a inseticidas sistêmicos por meio do consumo direto do pólen, néctar floral e extrafloral, tecidos e seiva de plantas cultivadas a partir de sementes tratadas e, de forma indireta, pelo consumo de presas ou hospedeiros contaminados (Cloyd; Bethke, 2011; Jeschke et al., 2011; Stoner; Eitzer, 2012). Organismos benéficos do solo também podem sofrer efeito letal e principalmente efeitos de inseticidas em TS que apresentam longos períodos de persistência em agroecossistemas (Li et al., 2012; Jones et al., 2014). O reconhecimento desses efeitos deletérios sobre os organismos benéficos é importante para ressaltar a importância de se usar qualquer insumo apenas quando realmente necessário, dentro dos preceitos de boas práticas agrícolas. Além de reduzir custos, isso permite evitar os impactos que essas aplicações em TS podem causar, mesmo que ainda inferiores aos de bioinsumos químicos ou botânicos aplicados via foliar.

Aplicações de insumos químicos e/ou bioinsumos na parte aérea das plantas de soja durante o desenvolvimento da cultura

Na parte aérea das plantas de soja, parasitoides, predadores e entomopatógenos (fungos, bactérias, nematoides e vírus) estão presentes naturalmente ou podem ser aplicados e/ou distribuídos como bioinsumos para controle principalmente de pragas e doenças que afetam a cultura da soja. Entretanto, esses organismos benéficos podem ser negativamente afetados pelo uso de insumos químicos não seletivos ou incompatíveis. Essa compatibilidade de uso é bastante complexa e pode diferir devido a vários fatores relacionados ao bioinsumo ou ao insumo químico. Segundo Malkones (2000), até os aditivos presentes nas formulações dos produtos fitossanitários podem afetar os bioinsumos e, em certos casos, até modificar o seu efeito, alterando sua compatibilidade com determinados organismos benéficos.

A) Aplicações de insumos químicos e/ou bioinsumos nos estádios iniciais da cultura de soja

Alguns fungicidas, inseticidas, herbicidas e fertilizantes sintéticos podem atuar de forma negativa sobre espécies do gênero *Trichoderma*, afetar o crescimento micelial, os mecanismos de ação ou degradar seus metabólitos secundários (Waghunde et al., 2016). A interação de *Trichoderma* spp. com algumas moléculas de herbicidas pode ocasionar modificações na dinâmica do fungo benéfico, diminuir a viabilidade ou até causar sua morte (Kredics et al., 2004). Um dos herbicidas mais utilizados em soja é o glifosato, que pode comprometer o crescimento micelial, as estruturas de resistência, produção e viabilidade de conídios do fungo (Andaló et al., 2004).

Além do glifosato, a utilização de clorimuron etílico, imazapique e também do imazapir podem ser incompatíveis com a ação e preservação de *Trichoderma* spp. O herbicida à base de clorimuron etílico pertence ao grupo químico da sulfoniluréia, enquanto os herbicidas à base de imazapique e imazapir são do grupo químico imidazolinona. Esses dois grupos de herbicidas apresentam o mesmo mecanismo de

ação, inibindo a enzima acetolactato sintase (ALS), que é importante para a biossíntese dos aminoácidos de cadeia ramificada (isoleucina, leucina e valina) na planta. A enzima ALS também conhecida como acetohidroxiácido sintase (AHAS) está presente em bactérias, fungos e plantas, sendo localizada nas mitocôndrias dos fungos e nos cloroplastos das plantas. As sequências deduzidas de aminoácidos dessa enzima são similares em fungos e plantas e apresentam alta correlação com a subunidade maior de AHAS em bactérias, sugerindo que todas da AHAS são derivadas de um ancestral comum. Portanto, a inibição do crescimento e desenvolvimento dos microrganismos após a exposição a esse mecanismo de ação é esperada. O glifosato pode também igualmente comprometer o crescimento de fungos entomopatogênicos como *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Metarhizium rileyi* (Figura 1) (Sosa-Gómez, 2005), apesar desses efeitos poderem variar com as diferentes formulações do herbicida.

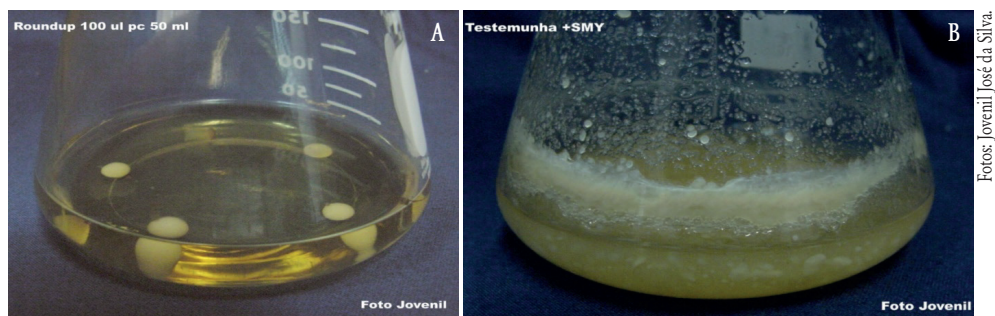


Figura 1. Redução na produção de micélio (A) do fungo entomopatogênico *Metarhizium rileyi* devido à ação de uma formulação de glifosato em comparação com o tratamento controle (testemunha) (B).

É importante salientar que esses estudos de compatibilidade foram feitos em laboratório; entretanto, acredita-se que no campo a ação desses herbicidas seja menos agressiva devido à influência dos fatores externos, evitando um contato tão intenso entre o químico e o insumo biológico (Dalacosta et al., 2019). Além disso, outros herbicidas químicos se mostraram compatíveis mesmo em laboratório, sem afetar negativamente o crescimento, desenvolvimento, esporulação e a produção de metabólitos dos fungos benéficos (Lobo Junior et al., 2009).

Em pesquisa com o herbicida oxadiazon, um inibidor da enzima protoporfirinogênio oxidase, Reis et al. (2013) observaram diferentes intensidades de reduções de crescimento micelial em isolados de *Trichoderma* spp., em que o isolado CE 66 não foi afetado pelo herbicida, o isolado TRI 02 apresentou sensibilidade moderada, com redução de 16% do crescimento micelial; e os isolados AJAM 118 e TRI 01 foram mais sensíveis, com reduções de 66% e 35%. Desta forma, foi demonstrado que espécies do gênero *Trichoderma* apresentaram níveis de sensibilidade diferentes para o herbicida. Esta diferença de compatibilidade pode ocorrer dentro de uma mesma espécie quando considerado um mesmo defensivo (Batista Filho et al., 2001). Portanto, a avaliação de sensibilidade deve ser realizada para cada isolado, mesmo que pertença à mesma espécie.

O tipo de formulação do agente de biocontrole pode também influenciar na compatibilidade da mistura com produtos fitossanitários. Por exemplo, ingredientes ativos formulados em concentrado

emulsionável (CE) causam maior hidratação dos esporos na suspensão e, embora estejam estáveis, sua parede celular pode estar mais fragilizada, o que permite a maior entrada de ingrediente ativo, diferente do que ocorre na formulação pó molhável (WP), onde o esporo está intacto e existe a necessidade de hidratação inicial, demandando maior volume de calda e, conseqüentemente, aumento da entrada de ingredientes ativos, fato que pode afetar a vida útil dos fungos benéficos (Dalacosta et al., 2019).

B) Aplicações de insumos químicos e/ou bioinsumos para o manejo de lagartas e percevejos na cultura da soja

Com o desenvolvimento dessa cultura, lagartas, percevejos e a ferrugem-asiática da soja passam a ser os principais desafios fitossanitários contra os quais bioinsumos comerciais são utilizados, muitas das vezes, em associação com os químicos. O manejo de lagartas pode ser realizado com inseticidas microbiológicos à base de bactérias, vírus ou macrobiológicos com parasitoides de ovos. Da mesma maneira, tem sido registrados diversos produtos à base de fungos para o manejo de percevejos, assim como parasitoides de ovos. No caso da ferrugem-asiática da soja, existem os biofungicidas à base de *Bacillus subtilis* que podem ser utilizados. Além desses bioinsumos atualmente registrados e disponíveis no mercado, existe grande número de inimigos naturais que atuam no controle biológico dessas e de outras pragas e doenças que acometem as lavouras de soja. O uso de químicos sintéticos seletivos (compatíveis) a esses organismos benéficos é de grande importância para o manejo sustentável da cultura.

A compatibilidade de predadores e parasitoides, que são importantes agentes de controle biológico de pragas na parte aérea da soja, com insumos químicos sintéticos, pode variar com a espécie, assim como o estágio de desenvolvimento do organismo benéfico que pode entrar em contato com o químico. Para os parasitoides em geral, a fase imatura (considerando um endoparasitoide), por estar protegida dentro do hospedeiro, é geralmente menos impactada pelos produtos fitossanitários quando comparada à fase adulta, que geralmente é de vida livre e por isso é mais suscetível aos efeitos adversos dos insumos químicos. Além disso, a dose efetiva do químico é também crucial para determinar seu impacto sobre o inimigo natural (Bueno et al., 2017).

Em geral, os produtos mais compatíveis com a preservação de predadores e parasitoides de importância agrícola na cultura da soja são os inseticidas e fungicidas biológicos (principalmente os vírus, bactérias e fungos entomopatogênicos) que são usualmente classificados como seletivos. Isto é verificado para o biofungicida à base de *B. subtilis*, por exemplo. Entretanto, apesar de sua maior seletividade, é importante considerar que qualquer produto (químico ou biológico) somente deve ser aplicado quando for realmente necessário, visto que até mesmo os inseticidas biológicos podem causar impactos negativos na preservação de outros organismos benéficos. Como exemplo, *M. anisopliae* provocou diminuição na emergência do parasitoide *Trichogramma pretiosum* quando aplicado sobre suas pupas, além de causar mortalidade de adultos do parasitoide, ao parasitar ovos contaminados com o fungo entomopatogênico (Potrich et al., 2009). Evidentemente, esses impactos negativos são menores comparativamente aos causados por inseticidas químicos que poderiam ser utilizados contra as mesmas pragas. Entretanto, efeitos adversos podem ser evitados, ou pelo menos mitigados, quando se faz o uso racional de uma ferramenta de controle, seja biológica ou química. Portanto, é crucial a adoção do manejo integrado de pragas da soja

(MIP-Soja) que preconiza o uso racional de qualquer método ou estratégia de manejo, sempre respeitando os níveis de ação, que são os níveis populacionais em que medidas de controle de pragas são realmente necessárias para evitar danos econômicos (Bueno et al., 2021).

Além dos inseticidas biológicos, o grupo dos reguladores de crescimento de insetos também se destacam pela sua maior seletividade aos agentes de controle biológico (Carvalho et al., 1994), principalmente quando comparados aos demais inseticidas químicos sintéticos. Os inseticidas flufenoxurom (10 g i.a. ha⁻¹), diflubenzurom (20 g i.a. ha⁻¹) e metoxifenozide (21,6 e 36 g i.a. ha⁻¹) foram considerados compatíveis com a preservação de pupas de *T. pretiosum* (Carmo et al., 2010a) e adultos de *Telenomus remus* (Carmo et al., 2010b). Apesar da maior seletividade dos inseticidas reguladores de crescimento de insetos, assim como mencionado anteriormente para os inseticidas biológicos, esses também podem causar efeitos negativos aos predadores (Figura 2) e parasitoides. Lufenurom, por exemplo, reduziu a capacidade de parasitismo de *T. pretiosum* em ovos de *Spodoptera frugiperda* (Pratisoli et al., 2004).

A toxicidade de um inseticida regulador de crescimento também pode variar com a fase de desenvolvimento do predador ou parasitoide que é exposta ao produto fitossanitário (Bueno et al., 2017). Triflumurom (24 g i.a. ha⁻¹) foi nocivo, classe 4 de uma classificação de 1 a 4 da *International Organization for Biological Control* (IOBC) quando aplicado sobre ovos parasitados de *Anagasta kuehniella* contendo *T. pretiosum* na fase larval. Por outro lado, esse produto na mesma dose foi inócuo (portanto compatível



Fotos: Adeney de Freitas Bueno

Figura 2. Larvas do crisopídeo *Chrysoperla externa* de segundo instar mortas durante a ecdise devido à ação do lufenurom. Detalhe da exúvia presa ao corpo (A). Detalhe da exúvia presa ao final do abdômen (B).

com o parasitoide) quando foi aplicado sobre ovos parasitados de *A. kuehniella* contendo *T. pretiosum* na fase de pupa (Bueno et al., 2008).

A variação na compatibilidade do produto fitossanitário com o predador ou parasitoide também é dependente da concentração do produto (Bueno et al., 2017). Triflumurom (14,4 g i.a. ha⁻¹) foi compatível (seletivo) com pupas de *T. pretiosum*. Entretanto, quando a dose desse inseticida foi aumentada para 24 g i.a. ha⁻¹, observou-se a redução da emergência dos adultos do parasitoide em 54,6% (Bueno et al., 2008). Portanto, sempre que a compatibilidade ou seletividade de um insumo agropecuário é avaliada, é importante considerar a dose do produto e a fase de desenvolvimento do inimigo natural em teste, visto que esses fatores têm influência direta nos resultados e sua alteração pode mudar a relação de compatibilidade do produto com o inimigo natural em avaliação.

Se, por um lado, os inseticidas biológicos são considerados mais seletivos e, portanto, mais compatíveis com os predadores e parasitoides, seguidos pelos reguladores de crescimento de insetos, por outro lado, os inseticidas dos grupos químicos carbamato e também piretroide são normalmente considerados menos compatíveis para esses insetos (Cañete, 2005; Bueno et al., 2017). Ao avaliar a ação de alguns piretroides, Carvalho et al. (2001) relataram diminuição da capacidade de parasitismo de adultos de duas linhagens de *T. pretiosum* por até 31 dias. Entretanto, em estudos conduzidos por Carmo et al. (2010a), alguns piretroides foram seletivos às pupas de *T. pretiosum* e nenhum produto foi classificado como nocivo. Essas diferenças podem ser atribuídas ao fato de que na fase de pupa, o parasitoide está mais protegido dentro do hospedeiro, o que a torna menos susceptível aos inseticidas (Bueno et al., 2017). Entretanto, durante a emergência, os parasitoides óofagos utilizam suas mandíbulas para romper o córion do ovo hospedeiro. Nesse momento, se ainda existir resíduos do inseticida, os parasitoides adultos podem ser contaminados e morrer durante o processo de emergência (Figura 3), o que ilustra a complexidade na avaliação de compatibilidade entre insumos químicos e biológicos.

Diferenças de tolerância aos químicos também pode existir entre espécies de predadores ou parasitoides. *Telenomus podisi*, um parasitoide de ovos de percevejos de dimensões corpóreas maiores que *T. pretiosum*, é usualmente mais tolerante a inseticidas quando comparados a *T. pretiosum* (Bueno et al., 2017). Isso não significa, entretanto, que o uso racional de inseticidas e a preferência por inseticidas biológicos ou, alternativamente, reguladores de crescimento de insetos, ainda não continue sendo importante para a preservação em campo desses insetos benéficos.

Os efeitos de novos inseticidas químicos, disponíveis no mercado brasileiro para controle de percevejos, foram avaliados sobre os parasitoides de ovos de *T. podisi* e *Trissolcus teretis*. Verificou-se que etiprole (0,75 e 1 L p.c.ha⁻¹) foi mais seletivo que sulfoxaflor + lambda-cialotrina (0,2 e 0,3 L p.c.ha⁻¹); enquanto tiametoxam + lambda-cialotrina (0,20 e 0,25 L p.c.ha⁻¹) e clorpirifós (2 L p.c.ha⁻¹) causaram impactos negativos aos parasitoides. Por isso, é recomendado que sejam feitas aplicações de inseticidas nas lavouras somente quando os níveis de controle da praga forem alcançados e isto deve ser determinado por meio de monitoramento populacional (Souza, 2021).

É importante salientar que não apenas os inseticidas, mas qualquer outro produto químico aplicado em lavouras de soja pode impactar negativamente na preservação de inimigos naturais, incluindo predadores ou parasitoides. Os herbicidas e fungicidas, na maioria das vezes, são negligenciados nesse aspecto, mas

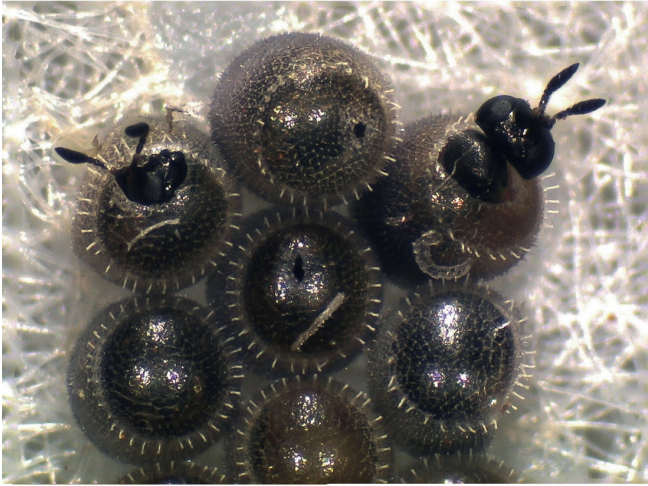


Foto: Adair Vicente Carneiro.

Figura 3. *Telenomus podisi* morto ao tentar emergir devido a resíduos de inseticidas pulverizados sobre os ovos.

podem também ter efeitos negativos sobre o controle biológico (Santos et al., 2006), principalmente se considerarmos a importância dos fungos benéficos. Bueno et al. (2008) relataram que alguns fungicidas foram nocivos à fase de ovo de *T. pretiosum*. Portanto, apesar de serem geralmente mais seletivos aos inimigos naturais (principalmente aos insetos benéficos) que os inseticidas, os fungicidas e também os herbicidas podem causar efeitos negativos e, por isso, devem ser usados somente quando forem realmente necessários para o manejo da cultura.

Em geral, considerando os aspectos bioecológicos de *T. pretiosum* e *T. podisi*, os dois principais parasitoides de ovos comercializados na atualidade para controle de pragas na cultura da soja, é recomendável que não haja aplicações de inseticidas entre 10 a 14 dias antes da liberação desses parasitoides no campo devido ao efeito residual dos inseticidas na superfície foliar. Após a liberação, é também recomendável que os inseticidas sintéticos não sejam utilizados 7 e 14 dias após a liberação de *T. pretiosum* e *T. podisi*, respectivamente.

O uso de insumos sintéticos pode ter efeitos danosos não somente nos artrópodes benéficos (predadores, parasitoides e polinizadores), mas também nos fungos e bactérias benéficos que muitas vezes são responsáveis por controle de organismos indesejados (pragas e patógenos). Esse efeito danoso pode interferir no papel desses fungos e bactérias como agentes de controle biológico de pragas e doenças, e pode favorecer surtos de pragas ou doenças anteriormente sob controle. Em muitos sistemas agrícolas, como o da soja, os fungos benéficos de ocorrência natural são importantes agentes de controle biológico de diversas espécies de insetos, ácaros ou organismos patogênicos. Frequentemente, no campo, esses agentes de controle biológico de pragas e doenças (fungos e bactérias) passam despercebidos pela maior parte dos sojicultores, mas a sua supressão pode ter consequências econômicas negativas importantes, pela ressurgência de pragas e doenças. Experimentos de campo em lavouras de soja têm demonstrado que a aplicação de fungicidas pode favorecer a maior incidência de lagartas nas áreas tratadas, pela supressão do fungo *M. rileyi* (Sosa-Gómez et al., 2003). Além de *M. rileyi*, ocorrem também fungos

como *B. bassiana* e outros menos conhecidos, mas não por isso menos importantes, como os fungos da ordem Entomophthorales, que são importantes agentes de controle natural de inúmeras pragas. Portanto, a aplicação de produtos com ação fungicida pode aumentar a população dessas pragas em razão da eliminação desses fungos benéficos. Inseticidas, herbicidas e principalmente fungicidas comumente aplicados em cultivos de soja podem afetar negativamente *M. rileyi*. A maioria dos produtos eficazes contra ferrugem-asiática inibe a germinação de esporos de *M. rileyi*. Dessa forma, para preservar esse fungo no sistema produtivo, as aplicações com fungicidas devem ser feitas oportunamente e apenas quando necessárias (Sosa-Gómez et al., 2003).

Além dos fungos entomopatogênicos, geralmente produtos à base de baculovírus podem ser utilizados juntamente com produtos químicos que não alterem o pH da calda de aplicação; entretanto, essa utilização conjunta pode não ser vantajosa em alguns casos. Por exemplo, a mistura de um bioinseticida de alta especificidade com inseticidas de amplo espectro de ação pode resultar em combinações cujo efeito não é seletivo. Isso contrasta com uma das principais características positivas do Baculovirus que é a sua seletividade, que permite ação complementar à de outros inimigos naturais.

Embora não desejável, uma prática utilizada para reduzir os custos de aplicação consiste em adicionar o vírus no momento da aplicação de herbicidas pós-emergentes, independente da densidade da praga. Entretanto, essa é uma prática que não segue uma das premissas do MIP-soja, que consiste em realizar a aplicação somente quando necessária. Embora não relatada há ocorrência de resistência às viroses no campo. O uso generalizado dessa operação pode aumentar o risco de ocorrência de resistência das pragas a esse entomopatógeno.

De acordo com Moscardi; Sosa-Gómez (1992), as misturas do nucleopoliedrovírus de *Anticarsia gemmatalis* (AgMNPV) com baixas doses de inseticidas (1/4 a 1/8 das doses recomendadas) foram eficientes para reduzir a população de *A. gemmatalis* quando o nível de ação de vinte lagartas pequenas (menores de 1,5 cm) por metro de linha para a aplicação do vírus foi ultrapassado. Assim, o uso de subdoses do inseticida permite reduzir o nível populacional da praga, enquanto que o vírus continua sua ação de controle da população remanescente, de modo a complementar a ação do inseticida, mostrando não apenas uma compatibilidade, mas também um efeito complementar da mistura.

Considerações finais e principais recomendações

O uso de insumos biológicos na agricultura tem apresentado acentuado crescimento nos últimos anos, e isto se deve em grande parte, à demanda crescente do mercado consumidor, que busca por produtos agrícolas com menor uso de químicos sintéticos em sua produção. Entretanto, é esperado que os insumos químicos ainda continuem sendo imprescindíveis para o sucesso da produção agrícola, pelo menos a curto prazo. Neste cenário, a compatibilidade entre insumos químicos e biológicos é essencial para o sucesso de sistemas produtivos. É importante a busca por produtos cada vez menos impactantes aos organismos benéficos que estão presentes em agroecossistema de soja. Cabe destacar que o sucesso na preservação dos diferentes organismos benéficos em lavouras de soja é apenas plenamente alcançada quando o Manejo Integrado de Pragas (MIP) e de Doenças (MID) e suas boas práticas agrícolas são adotados. A utilização racional de insumos químicos, adoção de níveis de ação para controle de pragas

e a priorização de uso dos insumos mais seletivos aos organismos benéficos é essencial. Essas medidas são muito importantes para qualquer insumo agrícola, seja ele químico ou biológico. Por mais seletivo e compatível que um produto químico ou biológico seja, a melhor forma de evitar seus impactos negativos é somente usá-lo quando realmente for necessário. Os benefícios do uso racional de insumos podem ser observados na cultura de soja no Estado do Paraná. Em programa piloto conduzido em parceria da Embrapa-Soja e o Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná (IDR-Paraná), desde a safra 2013/2014, os resultados obtidos ilustram a importância do tópico abordado nesse capítulo (Tabela 1).

Tabela 1. Programa de adoção do MIP-soja no Estado do Paraná com a adoção de inseticidas seletivos

Variáveis/Comparação 2013/14		Safrá				
		2014/15	2015/16	2016/17	2017/18	2018/19
Número de aplicações de inseticidas	Com adoção de MIP	2,3 (46 áreas)	2,1 (106 áreas)	2,1 (123 áreas)	2,0 (141 áreas)	1,5 (196 áreas)
	Sem adoção de MIP	5,0 (333 áreas)	4,7 (330 áreas)	3,8 (314 áreas)	3,7 (390 áreas)	3,4 (615 áreas)
Dias até a primeira aplicação de inseticida	Com adoção de MIP	60 dias	66 dias	66,8 dias	70,8 dias	78,7 dias
	Sem adoção de MIP	33 dias	34 dias	36 dias	40,5 dias	43,6 dias
Custo do controle de pragas (sacas/ha)	Com adoção de MIP	2,41	2,00	2,00	2,30	1,41
	Sem adoção de MIP	5,03	5,00	4,00	4,10	3,27
Produtividade (sacas/ha)	Com adoção de MIP	49,23	60,20	57,10	64,50	61,7
	Sem adoção de MIP	48,67	58,60	54,70	64,20	60,4

Fonte: adaptado de CONTE et al., (2014; 2015; 2016; 2017; 2018).

Utilizando-se inseticidas apenas quando necessário, foi possível aumentar o intervalo da primeira aplicação em aproximadamente 30 dias (Tabela 1). Isso associado ao uso dos inseticidas seletivos permitiu maior preservação dos inimigos naturais na área. A adoção de MIP e MID é com certeza o principal passo para a preservação de agentes biológicos de artrópodes pragas em agroecossistemas, criando um ambiente mais favorável para o sucesso de uso de bioinsumos. Assim como recomendado para os produtos químicos sintéticos durante o desenvolvimento da cultura, o uso de produtos químicos para o tratamento de sementes também deve ser empregado apenas quando necessário, de forma customizada, de acordo com o histórico de ocorrência de pragas e doenças iniciais na área. Isso diminui as chances de incompatibilidade com inoculantes aplicados via sementes e diminui a carga de produtos nas mesmas. Como medidas atenuadoras do impacto sobre os inoculantes nas sementes, micronutrientes como Co e Mo, que são essenciais à FBN, podem ser aplicados posteriormente via foliar, se a inoculação for realizada via sementes. Outra possibilidade, é a aplicação dos inoculantes via suco de semeadura, de forma a separá-los do contato com os químicos nas sementes, mas não se deve adicionar outros produtos à calda, deixando-a apenas para os inoculantes.

Referências

- ANDALÓ, V.; MOINO JR., A.; SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; SOUZA, G. C. Compatibilidade de *Beauveria bassiana* com agrotóxicos visando o controle da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae). **Neotropical Entomology**, v.33, n.4, p.463-467, 2004. DOI: 10.1590/S1519-566X2004000400011
- ANGUINONI, F. B. G.; BRACCINI, A. L.; SCAPIM, C. A.; ANGUINONI, G.; FERRI, G. C.; SUZUKAWA, A. K.; TONIN, T. A. Pre-inoculation with *Bradyrhizobium* spp. in industrially treated soybean seeds. **Agricultural Sciences**, v.8, n.7, p.582-590, 2017.
- ARAUJO, R. S.; DA CRUZ, S. P.; SOUCHIE, E. L.; MARTIN, T. N.; NAKATANI, A. S.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Preinoculation of soybean seeds treated with agrichemicals up to 30 days before sowing: technological innovation for large-scale agriculture. **International Journal of Microbiology**, v. 2017, p. 1-11, 2017. DOI: 10.1155/2017/5914786
- BALBINOT JÚNIOR, A. A.; OLIVEIRA JÚNIOR, A.; CAMPOS LEITE, M. V. B. **Ata da XXXV Reunião de Pesquisa de Soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2017. 133 p. (Embrapa Soja, Documentos, 385).
- BATISTA FILHO, J. E. M.; ALMEIDA, C.; LAMAS, A. Effect of thiamethoxam on entomopathogenic microorganisms. **Neotropical Entomology**, v. 30, p. 437-447, 2001.
- BIONDI, A.; ZAPPA, LA, L.; STARK, J. D.; DESNEUX, N. Do biopesticides affect the demographic traits of a parasitoid wasp and its biocontrol services through sublethal effects? **PLoS One** v. 8, n. 9, e76548; 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0076548
- BRADSHAW, J. D.; RICE, M. E.; HILL, J. H. Evaluation of management strategies for bean leaf beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) and bean pod mottle virus (Comoviridae) in soybean. **Journal of Economic Entomology**, v. 101, p. 1211-1227, 2008. DOI: 10.1603/0022-0493
- BUENO, A. F.; BUENO, R. C. O. F.; PARRA, J. R. P.; VIEIRA, S. S. Effects of pesticides used in soybeans crops to the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum*. **Ciência Rural**, v.38, n.6 p.1495-1503, 2008. DOI: 10.1590/S0103-84782008000600001
- BUENO, A. F.; CARVALHO, G. A.; SANTOS, A. C.; SOSA-GOMEZ, D. R.; SILVA, D. M. Pesticide selectivity to natural enemies: challenges and constraints for research and field recommendation. **Ciência Rural**, v. 47, e20160829. 10p. 2017. DOI: 10.1590/0103-8478cr20160829
- BUENO, A. F.; PANIZZI, A. R.; HUNT, T. E.; DOURADO, P. M.; PITTA, R. M.; GONÇALVES, J. Challenges for adoption of integrated pest management (IPM): the soybean example. **Neotropical Entomology**, v. 50, p. 5-20, 2021. DOI: 10.1007/s13744-020-00792-9
- BUENO, A. F.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI F.; BUENO, R. C. O. Inimigos naturais das pragas da soja. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA B. S., MOSCARDI F. (Eds.). **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. Brasília: Embrapa, 2012, pp 493-629.
- CAMPO, R. J.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Nitrogen fixation with the soybean crop in Brazil: compatibility between seed treatment with fungicides and bradyrhizobial inoculants. **Symbiosis**, v. 48, p. 154-163, 2009. DOI: 10.1007/BF03179994
- CAMPO, R. J.; ARAUJO, R. S.; MOSTASSO, F. L.; HUNGRIA, M. In-furrow inoculation of soybeans as alternative for fungicides and micronutrients seed treatment and inoculation. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, p. 1103-1112, 2010. DOI: 10.1590/S0100-06832010000400010
- CAÑETE, C. L. **Seletividade de inseticidas a espécies de *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae)**. 2005. 106 f. Dissertação (Mestrado em Zoologia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.
- CARMO, E. L.; BUENO, A. F.; BUENO, R. C. O. F. Pesticide selectivity for the insect egg parasitoid *Telenomus remus*. **BioControl**, v. 55, p. 455-464, 2010b. DOI: 10.1007/s10526-010-9269-y
- CARMO, E. L.; BUENO, A. F.; BUENO, R. C. O. F.; GOULART, M. M. P.; CARNEIRO, T. R. Seletividade de produtos fitossanitários utilizados na cultura da soja para pupas de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 2, p. 283-290, 2010a. DOI: 10.1590/1808-1657v77p2832010.
- CARVALHO, G. A.; GRUTZAMACHER, A. D.; PASSOS, L. C.; OLIVEIRA, R. L. **Physiological and Ecological Selectivity of Pesticides for Natural Enemies of Insects**. 1. ed. New York: Springer, 2019, v. 1, p. 469-478.
- CARVALHO, G. A.; PARRA, J. R. P.; BAPTISTA, G. C. Seletividade de alguns produtos fitossanitários a duas linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 25, p. 583-591, 2001.
- CARVALHO, G. A.; REIS, P. R.; GRUTZAMACHER, A. D.; DEGRANDE, P. E.; YAMAMOTO, P. T.; BUENO, A. F. Seletividade de produtos fitossanitários: uma estratégia viável para a agricultura sustentável. In: PARRA, J.R.P.; NAVA, D.E.; OLIVEIRA, R.C.; PINTO, A.S.; DINIZ, A.J.F. (Org.). **Controle Biológico com Parasitoides e Predadores na Agricultura Brasileira**. 1. ed. Piracicaba: FEALQ, 2021, v. 1, p. 481-510.

- CARVALHO, G. A.; TIRONI, P.; RIGITANO, R. L. O.; SALGADO, L. O. Seletividade de inseticidas reguladores de crescimento de insetos a *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v. 23, p. 431-434, 1994.
- CLOYD, R. A.; BETHKE, J. A. Impact of neonicotinoid insecticides on natural enemies in greenhouse and interiorscape environments. *Pest Management Science*, v. 67, p. 3-9, 2011. DOI: 10.1002/ps.2015
- CONTE, O.; OLIVEIRA, F. T.; HARGER, N.; CORRÊA-FERREIRA, B. S. **Resultados do Manejo Integrado de Pragas da Soja na safra 2013/14 no Paraná**. Londrina: Embrapa Soja, 2014. 56 p. (Embrapa Soja, Documentos 356).
- CONTE, O.; OLIVEIRA, F. T.; HARGER, N.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; ROGGIA, S.; PRANDO, A. M.; SERATTO, C. D. **Resultados do Manejo Integrado de Pragas da Soja na safra 2015/16 no Paraná**. Londrina: Embrapa Soja, 2016, 59 p. (Embrapa Soja, Documentos 375).
- CONTE, O.; OLIVEIRA, F. T.; HARGER, N.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; ROGGIA, S.; PRANDO, A. M.; SERATTO, C. D. **Resultados do Manejo Integrado de Pragas da Soja na safra 2016/17 no Paraná**. Londrina: Embrapa Soja, 2017, 70 p. (Embrapa Soja, Documentos 394).
- CONTE, O.; OLIVEIRA, F. T.; HARGER, N.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; ROGGIA, S.; PRANDO, A. M.; SERATTO, C. D. **Resultados do Manejo Integrado de Pragas da Soja na safra 2017/18 no Paraná**. Londrina: Embrapa Soja, 2018, 66 p. (Embrapa Soja, Documentos 402).
- CONTE, O.; OLIVEIRA, F. T.; HARGER, N.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; ROGGIA, S. **Resultados do Manejo Integrado de Pragas da Soja na safra 2014/15 no Paraná**. Londrina: Embrapa Soja, 2015, 60 p. (Embrapa Soja, Documentos 361).
- CORTÉS-PATIÑO, S.; BONILLA, R. R. Polymers selection for a liquid inoculant of *Azospirillum brasilense* based on the Arrhenius thermodynamic model. *African Journal of Biotechnology*, v. 14, p. 2547-2553, 2015. DOI: 10.5897/AJB2015.14777
- CZEPAK, C.; ALBERNAZ, K. C.; VIVAN, L. M.; GUIMARÃES, H. O.; CARVALHAIS, T. Primeiro registro de ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v. 43, p. 110-113, 2013.
- DALACOSTA, N. L.; FURLAN, S. H.; MAZARO, S. M. Compatibilidade de produtos à base de *Trichoderma* com fungicidas utilizados no tratamento de sementes. In: MEYER, M.C. MAZARO, S.M., SILVA, J.C. da. (Eds). *Trichoderma: uso na agricultura*. Brasília, DF: Embrapa, p. 323-338, 2019.
- DESNEUX, N.; DECOURTIE, A.; DELPUECH, J. M. The sublethal effects of pesticides on beneficial organisms. *Annual Review of Entomology*, v. 52, p. 81-106, 2007. DOI: 10.1146/annurev.ento.52.110405.091440
- DIVELY, G. P.; KAMEL, A. Insecticide residues in pollen and nectar of a cucurbit crop and their potential exposure to pollinators. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 60, p. 4449-4456, 2012. DOI: 10.1021/jf205393x
- EPA. U. S. Environmental Protection Agency. **Benefits of neonicotinoid seed treatments to soybean production**. Disponível em: http://www2.epa.gov/sites/production/files/2014-10/documents/benefits_of_neonicotinoid_seed_treatments_to_soybean_production_2.pdf; 2014. Acesso em: 15 dez. 2021.
- GONTIJO, P. C.; MOSCARDINI, V. F.; MICHAUD, J. P.; CARVALHO, G. A. Non-target effects of two sunflower seed treatments on *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthrenidae). *Pest Management Science*, v. 71, n. 4, p. 515-522, 2015. DOI: 10.1002/ps.3798
- GONTIJO, P. C.; MOSCARDINI, V. F.; MICHAUD, J. P.; CARVALHO, G. A. Non-target effects of chlorantraniliprole and thiamethoxam on *Chrysoperla carnea* when employed as sunflower seed treatments. *Journal of Pest Science*, v. 87, p. 711-719, 2014. DOI: 10.1007/s10340-014-0611-5
- GOULSON, D. REVIEW: An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *Journal of Applied Ecology*, v. 50, p. 977-987, 2013. DOI: 10.1111/1365-2664.12111
- HODGSON, E. W.; KEMIS, M.; GEISINGER, B. Assessment of Iowa growers for insect pest management practices. *The Journal of Extension*, v. 50, n.4, a. 23, RIB6, 2012.
- HOFFMANN-CAMPO, C. B.; MOSCARDI, F.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; OLIVEIRA, L. J.; SOSA-GOMEZ, D. R.; PANIZZI, A. R.; CORSO, I. C.; GAZZONI, D.L.; OLIVEIRA, E.B. **Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado**. Londrina: Embrapa Soja, 70p., 2000.
- HULL, L.; BEERS, E. Ecological selectivity: modifying chemical control practices to preserve natural enemies. In: HOY, M. A.; HERZOG, D. C. (Eds.). *Biological control in agricultural IPM systems*. New York: Academic Press, p. 103-122, 1985.
- HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S.; SILVA JÚNIOR, E. B.; ZILLI, É. J. Inoculum rate effects on the soybean symbiosis in new or old fields under tropical conditions. *Agronomy Journal*, v. 109, p. 1106-1112, 2017. DOI: 10.2134/agronj2016.11.0641
- HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A. **Tecnologia de Inoculação da Cultura da Soja: Mitos, Verdades e Desafios**. In: Boletim de Pesquisa 2019/2020. Rondonópolis: Fundação MT, 2019. p. 50-62. (Fundação MT. Boletim, 19).
- HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Alternative methods of soybean inoculation to overcome adverse conditions at sowing. *African Journal of Agricultural Research*, v. 10, p. 2329-2338, 2015. DOI: 10.5897/AJAR2014.8687

- HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; CAMPOS, L. J. M.; MENNA, P.; BRANDI, F.; RAMOS, Y. G. Seed pre-inoculation with *Bradyrhizobium* as time-optimizing option for large-scale soybean cropping systems. *Agronomy Journal*, v. 112, p. 5222-5236, 2020. DOI: 10.1002/agj2.20392
- JESCHKE, P.; NAUEN, R.; SCHINDLER, M.; ELBERT, A. Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 59, p. 2897-2908, 2011. DOI: 10.1021/jf101303g
- JONES, A.; HARRINGTON, P.; TURNBULL, G. Neonicotinoid concentrations in arable soils after seed treatment applications in preceding years. *Pest Management Science*, v. 70, p. 1780-1784, 2014. DOI: 10.1002/ps.3836
- KREDICS, L.; MANCZINGER, L.; ANTAL, Z.; PÉNZES, Z.; SZEKERES, A.; KEVEI, F.; NAGY, E. *In vitro* water activity and pH dependence of mycelial growth and extracellular enzyme activities of *Trichoderma* strains with biocontrol potential. *Journal of Applied Microbiology*, v.96, p. 492-498, 2004. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2004.02167.x
- LAHM, G. P.; STEVENSON, T. M.; SELBY, T. P.; FREUDENBERGER, J. H.; CORDOVA, D.; FLEXNER, L.; BELLIN, C. A.; DUBAS, C. M.; SMITH, B.K.; HUGHES, K. A.; HOLLINGSHAUS, J. G.; CLARK, C.E.; BENNER, E. A. Rynaxypyr: a new insecticidal anthranilic diamide that acts as a potent and selective ryanodine receptor activator. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, v. 17, p. 6274-6279, 2007. DOI: 10.1016/j.bmcl.2007.09.012
- LAURENT, F. M.; RATHAHO, E. Distribution of C-14 imidacloprid in sunflowers (*Helianthus annuus* L.) following seed treatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 51, p. 8005-8010, 2003. DOI: 10.1021/jf034310n
- LI, X.; DEGAIN, B. A.; HARPOLD, V. S.; MARCON, P. G.; NICHOLS, R. L.; FOURNIER, A. J.; NARANJO, S. E.; PALUMBO, J. C.; ELLSWORTH, P. C. Baseline susceptibilities of B- and Q-biotype *Bemisia tabaci* to anthranilic diamides in Arizona. *Pest Management Science*, v. 68, p. 83-91, 2012. DOI: 10.1002/ps.2227
- LOBO JUNIOR, M.; GERALDINE, A. M.; CARVALHO, D. D. C. **Controle biológico de patógenos habitantes do solo com *Trichoderma* spp., na cultura do feijoeiro comum.** Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2009. 4p. (Embrapa Arroz e Feijão, Circular Técnica 85).
- MAIN, A. R.; HEADLEY, J. V.; PERU, K. M.; MICHEL, N. L.; CESSNA, A. J.; MORRISSEY, C. A. Widespread use and frequent detection of neonicotinoid insecticides in wetlands of Canada's Prairie Pothole Region. *PLoS One*, v. 9: e92821. 2014. DOI: 10.1371/journal.pone.0092821
- MALKONES, H. P. Comparison of the effects of differently formulated herbicides on soil microbial activities a review. *Journal of Plant Diseases and Protection*, v. 8, p. 781-789, 2000.
- MCFADYEN, R. E. C. Biological Control of Weeds. *Annual Review of Entomology*, v. 43, p.369-93, 1998.
- MORAES, R. R.; LOECK, A. E.; BELARMINO, L. C. Inimigos naturais de *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) e de *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae) em soja no Rio Grande do Sul. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 26, p. 57-64, 1991.
- MOSCARDI, F.; SOSA-GÓMEZ, D. R. Use of viruses against soybean caterpillars in Brazil. In: COPPING, I.G.; GREEN, M.B.; REEDS, R.T. (Eds.). *Pest management in soybean*. London: Elsevier Applied Science, p.98-109, 1992.
- MOSCARDINI, V. F.; GONTIJO, P. C.; MICHAUD, J. P.; CARVALHO, G. A. Sublethal effects of chlorantraniliprole and thiamethoxam seed treatments when *Lysiphlebus testaceipes* feed on sunflower extrafloral nectar. *BioControl*, v. 59, p. 503-511, 2014. DOI: 10.1007/s10526-014-9588-5
- NUYTENS, D.; DEVARREWAERE, W.; VERBOVEN, P.; FOQUE, D. Pesticide-laden dust emission and drift from treated seeds during seed drilling a review. *Pest Management Science*, v. 69, p.564-575, 2013. DOI: 10.1002/ps.3485
- O'BRIEN, P. A. Biological control of plant diseases *Australasian Plant Pathology*, v.46, p.293-304, 2017. DOI 10.1007/s13313-017-0481-4
- OLIVEIRA, R. L.; GONTIJO, P.; SÂMIA, R. R.; CARVALHO, G. A. Long-term effects of chlorantraniliprole reduced risk insecticide applied as seed treatment on lady beetle *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). *Chemosphere*, v. 219, p.; 678-683, 2019. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2018.12.058
- PICANÇO, M. C.; GUEDES, R. N. C. Manejo integrado de pragas no Brasil: situação atual, problemas e perspectivas. *Ação Ambiental*, v. 2, p. 23-27, 1999.
- PLANES, L.; CATALAN, J.; TENA, A.; PORCUNA, J. L.; JACAS, J. A.; IZQUIERDO, J.; URBANEJA, A. Lethal and sublethal effects of spirotetramat on the mealybug destroyer, *Cryptolaemus montrouzieri*. *Journal of Pest Science*, v. 86, p. 321-327, 2013. DOI: 10.1007/s10340-012-0440-3
- POTRICH, M.; ALVES, L. F. A.; HAAS, J.; SILVA, E. R. L.; DAROS, A.; PIETROWSKI, V.; NEVES, P. M. O. J. Seletividade de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* a *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Neotropical Entomology*, v. 38, p. 822-826, 2009. DOI: 10.1590/S1519-566X2009000600016
- PRATISSOLI, D.; THULLER, R. T.; PEREIRA, F. F.; REIS, E. F. Ação transovariana de lufenuron (50 g/L) sobre adultos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) e seu efeito sobre o parasitóide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Ciência e Agrotecnologia*, v. 28, p. 9-14, 2004. DOI: 10.1590/S1413-70542004000100001

- REIS, M. R.; LEÃO, E. U.; SANTOS, G. R.; SARMENTO-BRUM, R. B. C.; GONÇALVES, C. G.; CARDON, C. H.; SILVA, D. B. Impacto de herbicidas em isolados de *Trichoderma* spp. *Planta Daninha*, v. 31, p. 419-426, 2013.
- RICHETTI, A.; GOULARTI, A. C. **Adoção e Custo do Tratamento de Sementes na Cultura da Soja**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2018. 9 p. (Embrapa Agropecuária Oeste, Comunicado Técnico, 247).
- RODRIGUES, T. F.; BENDER, F. R.; SANZOVO, A. W. S.; FERREIRA, E.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Impact of pesticides in properties of *Bradyrhizobium* spp. and in the symbiotic performance with soybean. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 36, p.172. 2020. DOI: 10.1007/s11274-020-02949-5
- ROYER, T. A.; GILES, K. L.; NYAMANZI, T.; HUNGER, R. M.; KRENZER, E. G.; ELLIOTT, N. C.; KINDLER, S. D.; PAYTON, M. Economic evaluation of the effects of planting date and application rate of imidacloprid for management of cereal aphids and barley yellow dwarf in winter wheat. *Journal of Economic Entomology*, v. 98, p. 95-102, 2005. DOI: 10.1603/0022-0493-98.1.95
- SAINI, E. Aspectos morfológicos y biológicos de *Podisus connexivus* Bergroth (Heteroptera: Pentatomidae). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, v. 53, p. 35-42, 1994.
- SAINI, E.; QUINTANA, G.; RIOS, M. Interacción entre el depredador *Podisus connexivus* (Heteroptera: Pentatomidae) y el virus de la poliedrosis nuclear de *Rachiplusia nu* (Lepidoptera: Noctuidae) en condiciones de laboratorio. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, v. 56, p. 105-108, 1997.
- SÂMIA, R. R.; GONTIJO, P. C.; OLIVEIRA, R. L.; CARVALHO, G. A. Sublethal and transgenerational effects of thiamethoxam applied to cotton seed on *Chrysoperla externa* and *Harmonia axyridis*. *Pest Management Science*, v. 75, p.694-701, 2019. DOI:10.1002/ps.5166
- SANCHEZ-BAYO, F.; TENNEKES, H. A.; GOKA, K. Impact of systemic insecticides on organisms and ecosystems. In: TRDAN, S. (Ed.). *Insecticides - development of safer and more effective technologies*. London: IntechOpen. p. 365-414, 2013.
- SANDINI, I. E.; BELANI, R. B.; FALBO, M. K.; PACENTCHUK, F.; HUZAR-NOVAKOWISKI, J. Seed treatment and pre-inoculation of soybean: effect of storage period and agrochemicals on the physiological quality of seed and yield. *African Journal of Agricultural Research*, v. 14, p. 151-160, 2019. DOI: 10.5897/AJAR2018.13687
- SANDINI, I. E.; BELANI, R. B.; FALBO, M. K.; PACENTCHUK, F.; HUZAR-NOVAKOWISKI, J. Pre-inoculation of soybean seeds: effects on survival of *Bradyrhizobium elkanii*, nodulation and crop yield. *African Journal of Agricultural Research*, v. 13, p. 2680-2690, 2018. DOI: 10.5897/AJAR2018.13591
- SANTOS, A. C.; BUENO, A. F.; BUENO, R. C. O. F. Seletividade de Defensivos Agrícolas aos Inimigos Naturais. In: PINTO, A.S.; NAVA, D.E.; ROSSI, M.M.; MALERBO-SOUZA, D.T. (Eds.). *Controle Biológico de pragas na prática*. 1. ed., v.1, p. 221-227, 2006.
- SANTOS, M. S.; RODRIGUES, T. F.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. The challenge of combining high yields with environmentally friendly bioproducts: A review on the compatibility of pesticides with microbial inoculants. *Agronomy*, v. 11, p. 870, 2021. DOI: 10.3390/agronomy11050870
- SANTOS, M. S.; RONDINA, A. B. L.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Compatibility of *Azospirillum brasilense* with pesticides used for treatment of maize seeds. *International Journal of Microbiology*, v. 2020, Article ID 8833879, 8 p., 2020. DOI: 10.1155/2020/8833879
- SEAGRAVES, M. P.; LUNDGREN, J. G. Effects of neonicotinoid seed treatments on soybean aphid and its natural enemies. *Journal of Pest Science*, v. 85, p. 125-132, 2012. DOI: 10.1007/s10340-011-0374-1
- SHAPIRO, J. P.; LEGASPI, J. C. Assessing biochemical fitness of predator *Podisus maculiventris* (Heteroptera: Pentatomidae) in relation to food quality: effects of five species of prey. *Annals of the Entomological Society of America*, v. 99, n.2, p. 321-326, 2006. DOI: 10.1603/0013-8746(2006)099[0321:ABFOPP]2.0.CO;2
- SILVA, E. R.; ZOZ, J.; OLIVEIRA, C. E. S.; ZUFFO, A. M.; STEINER, F.; ZOZ, T.; VENDRUSCOLO, E. P. Can co-inoculation of *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* alleviate adverse effects of drought stress on soybean (*Glycine max* L. Merrill)? *Archives of Microbiology*, v. 201, p. 325-335, 2019. DOI: 10.1007/s00203-018-01617-5
- SMITH, S. F.; KRISCHIK, V. A. Effects of systemic imidacloprid on *Coleomegilla maculata* (Coleoptera: Coccinellidae). *Environmental Entomology*, v. 28, p. 1189-1195, 1999. DOI: 10.1093/ee/28.6.1189
- SOSA-GÓMEZ, D. R. **Seletividade de agroquímicos para fungos entomopatogênicos**. Londrina: Embrapa Soja, 2005. 13 p. Disponível em: www.ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPSo-2009-09/28931/1/seletiv_fung.pdf. Acesso em: 10 mar. 2022.
- SOSA-GÓMEZ, D. R.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORSO, I. C.; OLIVEIRA, L. J.; MOSCARDI, F. **Manual de identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2006, 66 p.
- SOSA-GÓMEZ, D. R.; DELPIN, K. E.; MOSCARDI, F.; NOZAKI, M. H. The impact of fungicides on *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson epizootics and on populations of *Anticarsia gemmatilis* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae), on soybean. *Neotropical Entomology*, v. 32, p. 287-291, 2003. DOI: 10.1590/S1519-566X2003000200014

- SOUZA, W. R. Seletividade fisiológica de inseticidas utilizados em soja para os parasitoides *Telenomus podisi* Ashmead, 1893 e *Trissolcus teretis* (Johnson, 1987) (Hymenoptera: Scelionidae). 2021. 46p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná, Londrina. 2021.
- SPECHT, A.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; PAULA-MORAES, S. V.; YANO, S. A. C. Identificação morfológica e molecular de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) e ampliação de seu registro de ocorrência no Brasil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 48, p. 689-692, 2013. DOI: 10.1590/S0100-204X2013000600015
- STONER, K. A.; EITZER, B. D. Movement of soil-applied imidacloprid and thiamethoxam into nectar and pollen of squash (*Cucurbita pepo*). *PLoS One*, v. 7, e39114, 2012. DOI: 10.1371/journal.pone.0039114
- TAYLOR, A. G.; ECKENRODE, C. J.; STRAUB, R. W. Seed coating technologies and treatments for onion: challenges and progress. *HortScience*, v. 36, p.199-205, 2001. DOI: 10.21273/HORTSCI.36.2.199
- TOMIZAWA, M.; CASIDA, J. E. Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. *Annual Review of Pharmacology*, v. 45, p. 247-268, 2005.
- TORRES, J. B.; BARROS, E. M.; COELHO, R. R.; PIMENTEL, R. M. M. Zoophytophagous pentatomids feeding on plants and implications for biological control. *Arthropod-Plant Interactions*, v. 4, p. 219-227, 2010. DOI: 10.1007/s11829-010-9095-2
- TORRES, J. B.; BUENO, A. F. Conservation biological control using selective insecticides - A valuable tool for IPM. *Biological Control*, v. 126, p. 53-64, 2018. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2018.07.012
- TORRES, J. B.; ZANUNCIO, J. C.; MOURA, M. A. The predatory stinkbug *Podisus nigrispinus*: biology, ecology and augmentative releases for lepidopteran larval control in *Eucalyptus* forests in Brazil. *CABI Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, v. 1, n. 1, p. 1-18. 2006. DOI: 10.1079/PAVSNR20061015
- VAN LENTEREN, J. C.; BOLCKMANS, K.; KÖHL, J.; RAVENSBERG, W. J.; URBANEJA, A. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *BioControl*, v. 63, p.39-59, 2018. DOI: 10.1007/s10526-017-9801-4
- WAGHUNDE, R. R.; SHELAKE, R. M.; SABALPARA, A. N. *Trichoderma*: A significant fungus for agriculture and environment. *African Journal of Agricultural Research*, v. 11, n. 22, p. 1952-1965, 2016.
- WILDE, G.; ROOZEBOOM, K. L.; AHMAD, A.; CLAASSEN, M.; GORDON, B.; HEER, F.; MADDUX, L.; MARTIN, V.; EVANS, P.; KOFOID, K. D.; LONG, J.; SCHLEGEL, A. J.; WITT, M. Seed treatment effects on early season pests of corn and corn growth and yield in the absence of agricultural pests. *Journal of Agricultural and Urban Entomology*, v. 24, p. 177-179, 2007.
- ZILLI, J. E.; GIANLUPPI, V.; CAMPO, R. J.; ROUWS, J. R. C.; HUNGRIA, M. Inoculação da soja com *Bradyrhizobium* no sulco de semeadura alternativamente à inoculação de sementes. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 34, p. 1875-1881, 2010.

Controle de qualidade de produtos microbiológicos

*José Roberto Postalí Parra
Aloísio Coelho Junior
Alexandre José Ferreira Diniz*

Introdução

O Controle de Qualidade é um dos principais componentes da criação de insetos em pequena escala em laboratório e, principalmente em grande escala, nas criações massais. Num momento de consolidação do Controle Biológico (CB) como componente do Manejo Integrado de Pragas (MIP) no Brasil, a produção de macrorganismos benéficos que sejam competitivos com aqueles da natureza e que, portanto, tenham qualidade é fundamental para que o CB tenha credibilidade.

Quando se fala em Controle de Qualidade, pensa-se num setor de produção de outros insumos e não de biológicos. Assim, para insetos e ácaros é uma preocupação recente, pois as criações, especialmente as massais, são também recentes, com seu início a partir das décadas de 1960-1970, com o primeiro livro sobre o assunto editado por Smith (1966) (“Insect Colonization and Mass Production”). A partir daí surgiram muitos livros e trabalhos sobre o tema, alguns específicos como o livro de van Lenteren (2003) (“Quality Control and Production of Biological Control Agents”).

Os problemas de qualidade em uma criação se avolumam a partir do aumento de insetos criados. Criações de pesquisa (pequena escala) ou intermediárias (para testes de “screening” de produtos químicos, por exemplo) apresentam menor número de problemas do que as criações massais, com milhões de insetos sendo produzidos. De acordo com Parra et al. (2002) criações massais servem de suporte aos programas de CB e envolvem operações semelhantes às de uma fábrica. Existem diferentes definições para criação massal, de acordo com Finney e Fisher (1964), é a produção de milhões de insetos, em uma linha de montagem, com o objetivo de produzir, com o mínimo de homens/hora e de espaço, o número máximo de fêmeas férteis no tempo mais curto possível e com baixo custo. Leppla; Adams (1987) definiram como uma atividade sistemática, automatizada, em instalações integradas, com o objetivo de produzir um suprimento relativamente grande de insetos para distribuição.

Em uma criação massal, os principais problemas são relacionados à qualidade dos insetos e ácaros produzidos, à sanidade da criação, ao custo da produção e ao armazenamento dos insumos biológicos produzidos (Parra, 1998).

Assim, o objetivo deste capítulo é apresentar as medidas a serem tomadas em uma criação em larga escala, para manter a qualidade de insetos e ácaros, uma vez que podem ocorrer alterações fenotípicas e genotípicas ao longo de gerações em laboratório.

No Brasil, ainda são poucas as publicações sobre o assunto, podendo ser citadas Prezotti; Parra (2002); Prezotti et al. (2002, 2004); Bueno (2009); Parra; Consoli (2009); Veiga et al. (2013); Coelho Jr et al. (2016); Queiroz et al. (2017); Bertin et al. (2017); Coelho Jr et al. (2018); Bertin et al. (2021). Tais estudos deverão aumentar com o aumento da utilização do Controle Biológico no país, hoje aumentando mais de 20% ao ano, percentual maior do que no resto do mundo (Parra et al., 2021).

Razões da Alteração da Qualidade de Insetos e Ácaros em laboratório

Vários fatores foram apontados por Bartlett (1984) causando alterações da qualidade do inseto em laboratório:

1. Temperatura: no laboratório ela é estável ou periódica; na natureza ela é flutuante;
2. Luz: no laboratório, artificial e constante; diferente da luz natural;
3. Umidade Relativa: no laboratório, estável ou ligada ao controle de temperatura; na natureza ela é flutuante;
4. Alimento: no laboratório, fornecido artificialmente; na natureza, natural com livre escolha;
5. Abrigo: não fornecido ou inadequado no laboratório; na natureza, ativamente procurado, quando necessário;
6. Parasitoides/Predador: não há pressão natural no laboratório por outros organismos; na natureza, a pressão é constante ou flutuante;
7. Competição: ausente no laboratório; pode ser presente e intensa na natureza;
8. Presença Humana: intensa, com exposição contínua no laboratório; exposição esporádica na natureza;
9. Microambiente: é oferecida uma condição média no laboratório; o ótimo é ativamente procurado na natureza;
10. Busca de cópula: fácil de encontrar no laboratório enquanto na natureza, tal busca pode levar algum tempo, com gasto de energia;
11. Aceitação de cópula: promíscua no laboratório (força-se tal cópula); na natureza existem as condições naturais, com livre escolha;
12. Postura: é artificial ou restrita em laboratório enquanto na natureza há uma livre escolha;
13. Dispersão: restrita no laboratório e dependente da densidade ou induzida pelo ambiente, na natureza;
14. Vento: geralmente ausente ou com baixa velocidade no laboratório; variável na natureza, mas geralmente presente;
15. Produtos químicos: feromônios concentrados ou em pequenas concentrações; na natureza, tais feromônios são difusos ou existem alguns tipos de voláteis de plantas em diferentes concentrações e que podem alterar o comportamento dos insetos;
16. Água livre: em laboratório geralmente oferecida (à vontade) com adição de um carboidrato em

única concentração; na natureza existem muitas fontes, às vezes restritas e com concentrações variáveis, incluindo pólen, néctar etc.

É interessante salientar que tais fatores podem alterar as duas espécies envolvidas, pois em CB, com base nos conhecimentos atuais, criam-se o hospedeiro ou presa e o inimigo natural. Assim, os problemas são dobrados em relação à criação de uma única espécie.

Controle de Qualidade em Criações Massais de Insetos

O Controle de Qualidade prevê não somente o Controle de Produção, mas também o Controle do Processo, o Controle do Produto e finalmente o Controle da Utilização do inimigo natural em condições de campo. Portanto, deverá haver tal Controle em laboratório e, posteriormente, no campo (Leppla, 2003) (Figura 1).

Os conceitos de Controle de Qualidade foram expandidos por Leppla (2014), incluindo o termo “quality insurance” (garantia de qualidade) que compreende não somente fatores ligados à produção, mas também ao processo de pós-produção, incluindo distribuição, aplicação e avaliação da eficiência dos inimigos naturais.

A qualidade ou performance total depende da performance no campo e no laboratório (Figura 2), sendo que os componentes variam dependendo do procedimento em Controle Biológico (liberações inoculativas, sazonais ou inundativas).

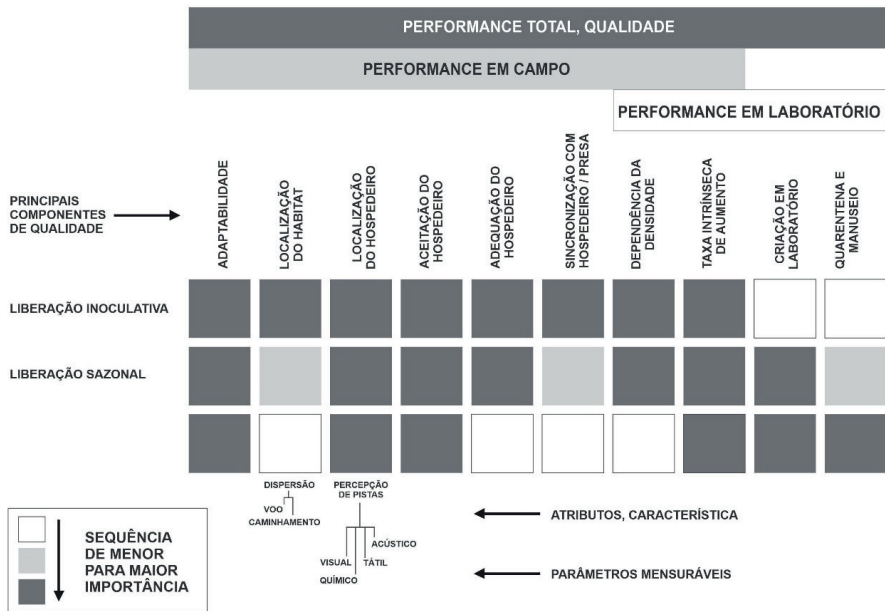


Figura 1. Principais componentes de qualidades em função dos diferentes tipos de liberação de inimigos naturais.

Fonte: Prezotti; Parra (2002).

Obstáculos à qualidade em laboratório

Insetos criados em laboratório (hospedeiro e inimigo natural) podem apresentar:

Mudança comportamental

Esta pode ocorrer devido ao hospedeiro de criação e às condições de armazenamento. Nem sempre o hospedeiro de criação é o natural. Assim, espécies do gênero *Trichogramma* são criadas em hospedeiros alternativos, como traças, das espécies *Sitotroga cerealella*, *Anagasta kuehniella* ou *Corcyra cephalonica* ou mesmo ovos ou óvulos de bichos-da-seda como *Samia cynthia*, *Antheraea pernyi* ou *Bombyx mori* (Parra, 1997). Alguns taquinídeos são criados em lagartas de *Galleria mellonella*, a traça-dos-favos. Depois de algumas gerações em hospedeiros que não sejam os naturais, o inimigo natural poderá mudar seu comportamento e não mais parasitar o hospedeiro natural. Portanto, isto deve ser periodicamente avaliado; mesmo em hospedeiros naturais alterações na população podem ocorrer, pela seleção de indivíduos menos aptos (vide deterioração genética e seleção de haplótipos).

Em relação ao armazenamento, muitas vezes os inimigos naturais criados em hospedeiros alternativos ou naturais, têm que ser armazenados e para que não seja perdida uma grande quantidade de insetos nos períodos de entressafra e que não seja interrompida a criação massal que terá dificuldade em voltar à quantidade inicial de insetos criados após a interrupção. É necessário o armazenamento por longos períodos, às vezes, em temperaturas baixas ou mesmo, em nitrogênio líquido para ovos a serem parasitados posteriormente. Este armazenamento poderá afetar a biologia e comportamento do inseto após a retirada deste armazenamento.

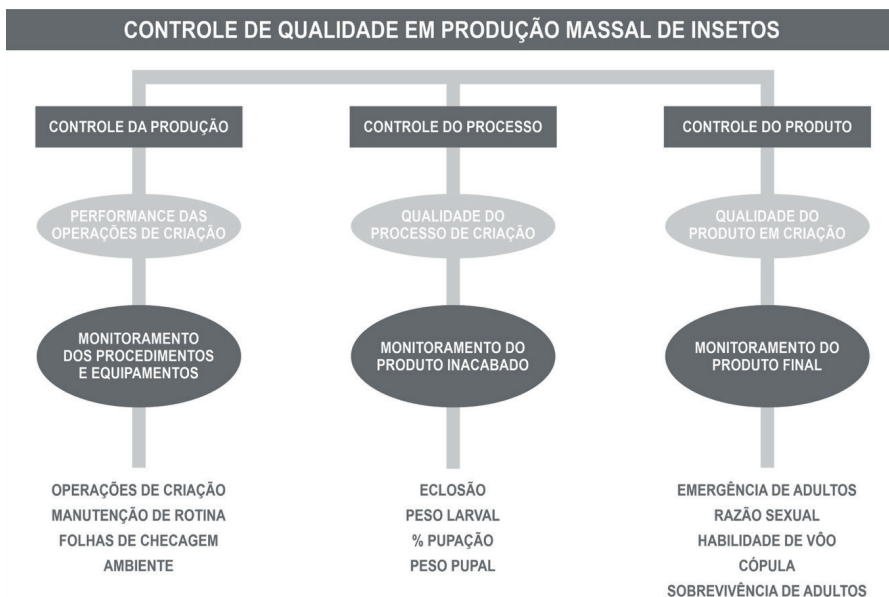


Figura 2. Organograma geral do controle de qualidade na produção de insetos com as diferentes fases e procedimentos de cada um.

Fonte: Prezotti; Parra (2002).

Os franceses induzem a diapausa em espécies de *Trichogramma* e vão interrompê-la quando forem necessárias novas liberações. Não há relatos, em São Paulo, de diapausa de *Trichogramma* spp. (Rossi, 1997). Talvez esta diapausa (ou quiescência) ocorra em regiões mais frias do país. Este armazenamento só deverá ser feito se não afetar as características qualitativas do inimigo natural.

Deterioração genética e seleção de haplótipos

A deterioração genética ocorre devido à deriva genética (efeito fundador), ao endocruzamento (cruzamento entre irmãos) e seleção (Mackauer, 1972a) que ocorrem ao longo da criação. Assim, o tamanho da população fundadora afetará quantitativamente a variabilidade que ocorrerá naquela limitada fração nativa. O tamanho inicial da colônia ou efeito fundador, deve ser alto, embora não exista um número definido. Sabe-se que esta variação genética pode ser perdida através de endocruzamentos, deriva e/ou seleção em condições de laboratório (Unruh et al., 1983; Hopper; Roush, 1993; Omwega; Overholt, 1996). Existem generalizações sem comprovações científicas, como os trabalhos de Mackauer (1972b); Bartlett (1984) e Waage et al. (1985) que propuseram 500, 1.000 e 250 a 500 indivíduos respectivamente, para o início de uma colônia de insetos. Contudo, existe um visível custo adaptativo entre o tamanho efetivo da população e a taxa em que a população se adapta às condições de laboratório (Margan et al., 1998; Frankham, 2008; Woodworth et al., 2002).

Um número pequeno de indivíduos para iniciar uma colônia, pode levar ao endocruzamento (“inbreeding”) e à degeneração populacional. Em geral, em laboratório, uma população de insetos se estabiliza após a 7ª geração (Boller, 1972), sendo que após o início da colônia, ocorre uma perda devido à deriva genética, seleção e cruzamento entre irmãos, na 1ª geração; posteriormente, uma recuperação da variabilidade devido a mutações e recombinações (Figura 3).

O número ou tamanho efetivo da população (N_e) representa, do ponto de vista da amostragem estatística, o número genético de indivíduos em uma população idealizada, onde a reprodução ocorre ao acaso e igual número de descendentes é produzido por indivíduo (Crow; Kimura, 1970). O N_e é afetado pela razão sexual da população e pela variação do tamanho da prole (Roush, 1990). Os efeitos da deterioração genética (“inbreeding”) são comuns em populações diploides. Segundo Ito; Ymagishi (1989) tais adaptações são muito rápidas e a competitividade de moscas utilizadas em programas de inseto estéril declina de 75% em 5 gerações para 25% em 18 gerações.

Parasitoides da Ordem Hymenoptera usados em controle biológico possuem reprodução haplodiploide, o que ocasiona menor ou nenhuma depressão endogâmica (“inbreeding”) em comparação aos insetos diploides (Legner, 1979; Fabritius, 1984; Sorati et al., 1996; Antolin, 1999; Prezotti et al., 2004; Luna; Hawkins, 2004). Sabe-se, que de fato, certos agentes de controle biológico completamente homozigotos, são bastante eficientes, podendo citar como exemplo, *Encarsia formosa* que é utilizada para o controle de moscas-brancas na Europa desde 1930 (van Lenteren et al., 1997). Esta espécie é partenogenética (telítoca), quando infectada pelo endossimbionte *Wolbachia* (Meer et al., 1995). Laing; Heraty (1981) relataram que a população inicial do parasitoide *Apanteles pedias* utilizado para controle biológico da *Phyllonorycter blancardella*, um lepidóptero minador da maçã, foi iniciado com duas fêmeas telítocas. Porém, os efeitos de adaptações genéticas a condições de laboratório permanecerão e, conseqüentemente, a previsão é de que

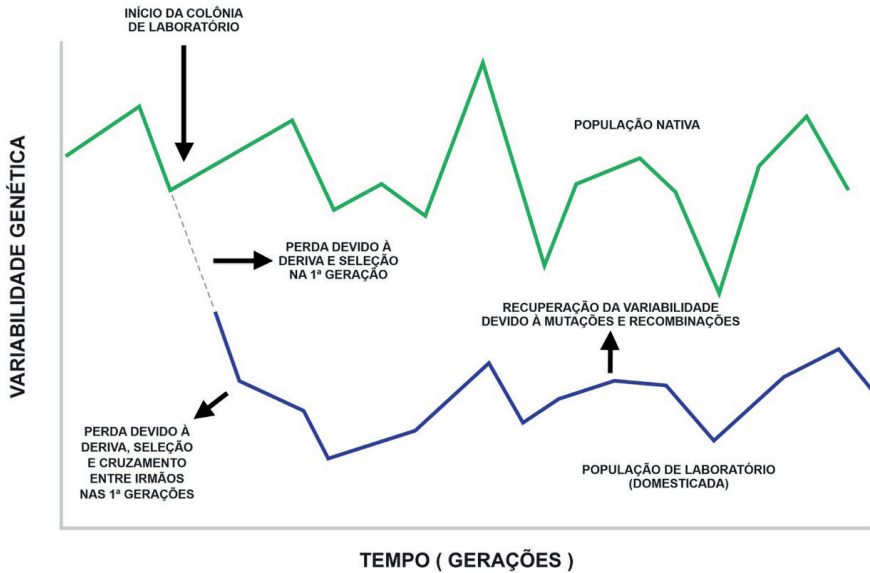


Figura 3. Curvas teóricas representando a perda e retomada da variabilidade genética de uma população de insetos em condições de laboratório em comparação com uma população de campo.

com o aumento efetivo do tamanho da população durante a criação massal o desempenho de parasitoides possa ser reduzido em condições de campo, pois selecionou-se um haplótipo mais adaptado às condições de laboratório. No caso de parasitoides haplodiploides sugere-se que as adaptações às criações massais podem ser minimizadas, mantendo-se parasitoides coletados em campo numa série de linhagens de isofêmeas (Roush, 1990; Stouthamer et al., 1992; Hopper; Roush, 1993; Cook, 1993; Sorati et al., 1996; Coelho Jr. et al., 2016).

Infecção por patógenos (Bjornson; Schütte, 2003)

Existe uma série de relatos de macro-organismos que podem ser infectados por diferentes patógenos, em criações de insetos em larga escala, podendo-se citar:

- *Trichogramma* spp. - pode ser infectado por bactérias e protozoários.
- *Cotesia* - por vírus, microsporídios, fungos.
- *Phytoseiulus* - vírus, bactérias, protozoários, doenças não identificadas.
- *Encarsia* - por bactérias e protozoários
- *Chrysoperla* - vírus, protozoários, fungos

Estes patógenos podem dizimar populações de laboratório, especialmente em criações em dietas artificiais (Parra, 2009). Os simbiosiontes também podem comprometer as criações sendo que grande parte dos insetos apresentam estes microrganismos e eles ainda não são totalmente conhecidos.

Padrões para determinação da qualidade do inseto

A qualidade de um inseto de laboratório é determinada em comparação a um padrão (inseto que tenha as características do inseto selvagem). Então é dependente do objetivo da criação; por exemplo, um inseto que esteja sendo criado para “screening” de inseticidas, deve apresentar a DL50 igual à do inseto padrão, quando aplicado o produto químico; por outro lado, se for criado para estudos de nível de dano econômico e o inseto criado em laboratório consumir menor área foliar em relação ao padrão ele não poderá ser considerado equivalente ao inseto selvagem.

No caso de inimigos naturais, objetivo do presente capítulo, parâmetros como longevidade, fecundidade, razão sexual, tamanho de adultos, porcentagem de emergência, capacidade de voo e parasitismo, deverão ser avaliados (van Lenteren et al., 2003; van Lenteren, 2009a, b). A frequência e métodos a serem adotados não têm um padrão para todos os grupos de inimigos naturais, dadas às características biológicas de cada um. Tais atividades dependem muito das experiências adquiridas pelos técnicos responsáveis pelas criações dos inimigos naturais; estes profissionais quando bem treinados “percebem”, alterações nas populações, o que pode levá-los a realizarem os testes adequados.

Na Europa existem padrões de qualidade para 26 a 30 espécies de parasitoides e predadores estabelecidos, pela IOBC (“International Organization for Biological and Integrated Control”) (van Lenteren et al., 2003; van Lenteren, 2009a, b).

Assim, para espécies de *Trichogramma* a IOBC recomenda que mensalmente deverão ser avaliados cinco parâmetros, em temperatura de 25 °C e Umidade Relativa entre 60-70%, com os respectivos valores esperados para um inseto ser considerado de qualidade:

- Razão sexual: $\geq 50\%$ fêmeas;
- Capacidade de parasitismo: ≥ 40 descendentes/ 7 dias / fêmea;
- Longevidade: 80% das fêmeas deverão viver, pelo menos, 7 dias;
- Parasitismo no hospedeiro natural: ≥ 10 ovos parasitados/4h/ fêmea;
- Teste de voo: $\geq 90\%$ de insetos voadores.

O teste de voo deve ser feito em tubo de PVC, conforme Dutton; Bigler (1995) modificado por Prezotti et al. (2002) (Figura 4), com os resultados da Tabela 1, mostrando as vantagens da modificação. A recomendação de avaliações mensais para *Trichogramma* dá-se, considerando-se o ciclo do inseto, que a 25 °C é de 10 dias; portanto em um (1) mês o inseto produzirá três gerações.

Em estudo conduzido por Prezotti et al. (2002) concluiu-se que os parâmetros longevidade, parasitismo e atividade de voo, seriam suficientes para avaliar a qualidade de espécies de *Trichogramma*.

Como comentado anteriormente, o tamanho das populações fundadoras é sempre tema de debate. Entretanto, para *T. pretiosum* concluiu-se que o tamanho inicial da colônia não compromete a finalidade

Tabela 1. Comparação da eficiência de dois modelos para avaliação de atividade de voo de *Trichogramma pretiosum* com base na porcentagem de indivíduos capturados na tampa (voadores).

Modelo / população	F ₃	F ₃₅	F ₇₂	Média
Dutton & Bigler	76,9	79,1	75,4	77,1b
Esalq [*]	85,3	89,0	83,6	86,0a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Testes realizados a temperatura de 25 ± 2 °C, UR 60±10% e fotofase de 24h.

dos parâmetros biológicos (parasitismo, porcentagem de emergência, longevidade e razão sexual), sendo possível iniciar uma criação em laboratório com apenas um casal de insetos (Prezotti et al., 2004). Entretanto, estes autores sugerem que as colônias de laboratório sejam iniciadas com um tamanho populacional efetivo de 15 a 20 casais, ou seja com 15 a 20 casais que possuam variabilidade genética.

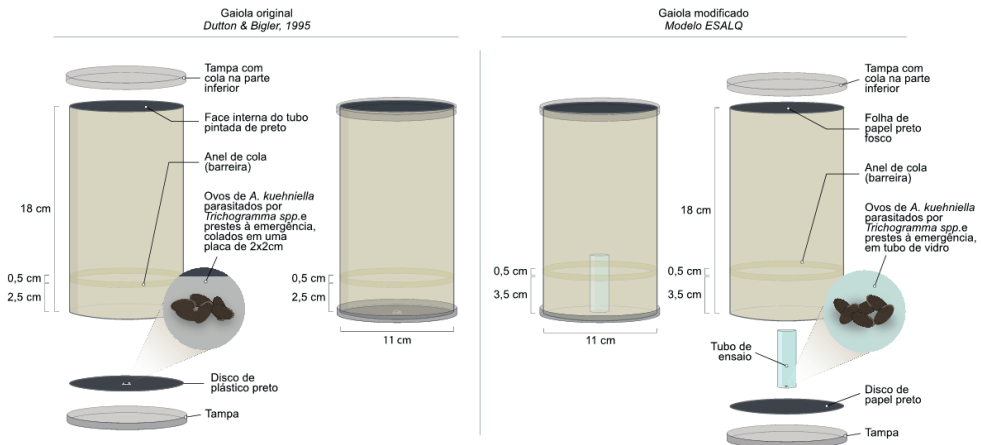


Figura 4. Unidades-teste para avaliação da atividade de voo de *Trichogramma* em laboratório.

Fonte: modelo original desenvolvido por Dutton e Bigler (1995) e modelo “Esalq” adaptado por Prezotti et al. (2002).

Alguns outros exemplos de parâmetros a serem medidos, mensalmente, para avaliação da qualidade de inimigos naturais, segundo a IOBC:

Cotesia flavipes

- Parasitismo: $\geq 85\%$ de “massas” formadas e ≥ 50 casulos/ “massa” (conjunto de casulos);
- Emergência: $\geq 90\%$ de emergência;
- Atividade de voo: ≥ 50 -90% de insetos voadores.

Neste caso, como *C. flavipes* é maior que *Trichogramma*, o tubo de PVC para avaliação de capacidade de voo deve ser maior, e ao invés de ser de 20 cm de altura e 10 cm de diâmetro, deverá ter 25 e 30 cm respectivamente.

Orius spp.

- Razão sexual: $\geq 50\%$ de fêmeas;
- Fecundidade: ≥ 50 ovos/ fêmea/ 15 dias.

Podisus nigrispinus

- Porcentagem de eclosão: $\geq 80\%$ de eclosão;
- Características das ninfas: $\geq 90\%$ de percevejos ativos e túrgidos;
- Fecundidade: ≥ 50 ovos/ fêmea/ 10 dias.

Ácaros predadores

- Razão sexual: $\geq 70\%$ de fêmeas;
- Longevidade: mínima de 5 dias, atingido por, pelo menos, 80% das fêmeas examinadas no teste de fecundidade;
- Fecundidade: ≥ 100 ovos/ fêmea/ 5 dias.

Cryptolaemus montrouzieri

- Razão sexual: $\geq 40\%$ de fêmeas;
- Longevidade: mínima de 30 dias a 25 °C;
- Fecundidade: ≥ 50 ovos/ fêmea/ 10 dias.

Nestes exemplos, são levadas em consideração características biológicas para avaliação da qualidade. Portanto, o Controle de Qualidade para criações massais com diferentes objetivos envolve avaliações regulares de amostras (geralmente mensais), com observações das características biológicas, principalmente, podendo ser feitas outras avaliações como:

- moleculares
- olfatométricas
- enzimáticas
- determinações cromossômicas
- resistência a agroquímicos
- danos causados
- metabolismo

Em geral, são feitas análises biológicas. Entretanto, cada vez mais as análises moleculares ocupam posição de destaque: Técnicas de PCR (“Polymerase Chain Reaction”), tempo real ou convencional, para amplificar e sequenciar fragmentos de DNA nuclear (microsatélites, ITS), e principalmente mitocondrial como o gene citocromo c oxidase subunidade I (COI), demonstram ser métodos moleculares eficientes na identificação precisa de espécies e linhagens.

A despeito destes avanços, muitas vezes por falta de estruturas adequadas, as técnicas envolvendo avaliações biológicas e morfológicas são ainda mais rápidas e adequadas para atividades rotineiras de um laboratório, mostrando-se eficientes para avaliação da qualidade do inimigo natural criado em laboratório.

Controle de Qualidade - cuidados gerais

Resumindo, os cuidados básicos são, pelo menos, três.

1) Os órgãos fiscalizadores (ainda inexistentes no Brasil), deverão orientar os fornecedores de insumos biológicos, a fazerem as inspeções periódicas anteriormente mencionadas. Atualmente, no Brasil, a responsabilidade de tal controle é das próprias empresas ou produtores de insumos biológicos.

2) O início das populações de inimigos naturais, parasitoides ou predadores deve ser feita a partir de um número razoável de indivíduos, determinado cientificamente, para evitar problemas com o efeito fundador, seleção de haplótipos menos aptos e com o cruzamento entre irmãos (consanguinidade ou

“inbreeding”) para insetos não haplodiploides.

3) Periodicamente devem ser introduzidos inimigos naturais do campo (selvagens) para aumentar a variabilidade genética das populações; isso não vale para parasitoides haplodiploides que são mantidos em isolinhagens; de um modo geral, anualmente, devem ser realizadas tais introduções. Vale ressaltar que muito cuidado deve ser tomado nessas introduções, pois em casos de parasitoides diminutos a identidade taxonômica da espécie deve ser avaliada e deve-se certificar que as populações trazidas do campo não contenham contaminações com outros parasitoides, às vezes do mesmo gênero.

No caso do Controle Biológico, prevendo a importação de inimigos naturais, todo o processo deverá ser orientado pela Embrapa Meio Ambiente ou órgão equivalente. Quando da importação de um inimigo natural ou na coleta no campo, para aumentar a variabilidade genética da população, deve-se observar uma quarentena, para não trazer problemas às criações de laboratório.

Considerações finais

Visando ao sucesso em criações de inimigos naturais, com ênfase aos macro-organismos, antes de se fazer o controle de qualidade deve-se evidentemente selecionar corretamente o inimigo natural para o programa de CB previsto. Assim, desde a taxonomia, principalmente para insetos pequenos, pois isto pode levar a insucessos se feito de forma equivocada, uma vez que se trata do início do programa. Pode-se citar como exemplo que até a década de 1980 pensava-se que a espécie que parasitava ovos da broca-da-cana-de-açúcar [*Diatraea saccharalis*] era *Trichogramma minutum*. Entretanto, foi verificado pelo Prof. Roberto Antonio Zucchi, do Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ, que se tratava de uma espécie nova, *Trichogramma galloi*, cujo nome foi atribuído em homenagem ao Prof. Domingos Gallo, um dos precursores do Controle Biológico no Brasil.

Diversas espécies podem ser criadas em um hospedeiro alternativo ao invés do hospedeiro natural. As populações de agentes de Controle Biológico criadas em laboratório podem se adaptar e/ou serem selecionadas às condições de laboratório e apresentar preferência, depois de algumas gerações pelo hospedeiro de criação, diminuindo sua eficiência sobre a praga alvo (Cònsoli; Parra, 1996; Bertin et al., 2017, Bertin et al., 2021).

Às vezes a praga visada criada em uma dieta artificial pode não propiciar um bom desenvolvimento do inimigo natural com alteração no seu comportamento e desenvolvimento (Gandolfi et al., 2003; Grenier; De Clercq, 2003). Os contaminantes da dieta podem ser limitantes à criação (Parra, 2009).

A presença ou não de simbiosites, como para *Trichogramma*, em que a presença de *Wolbachia*, altera a razão sexual e dificulta até a identificação, pela não presença de machos. Há necessidade de se tratar com antibióticos para remover o simbiote que causa incompatibilidade citoplasmática, feminização e partenogênese (Stouthamer, 1990).

A origem do inimigo natural pode afetar a qualidade de um agente de Controle Biológico. Assim, Bleicher; Parra (1990) verificaram que linhagens de *T. pretiosum* de clima quente se adaptam melhor a este clima e os coletados em clima frio preferem tal condição, pois a despeito da inespecificidade do parasitoide, tais linhagens têm exigências microclimáticas diferentes em função do local de coleta.

Os fatores abióticos devem ser testados, incluindo, temperatura, UR, fotoperíodo e aeração, pois existem faixas favoráveis, considerando-se suas exigências. As temperaturas constantes de laboratório podem ou não serem favoráveis ao inseto que vive na natureza em temperaturas alternantes (Cònsoli; Parra, 1996). Coelho Jr. et al. (2018) demonstraram que *T. pretiosum* coletado no Brasil apresentou propensão a voo menor em condições de UR de 30%, diferindo daquele a 80%, enquanto populações norte-americanas demonstraram alta capacidade de voo em ambas as condições. Quanto a aeração, Coelho Jr. et al. (2017), demonstraram que *T. pretiosum* criado em hospedeiro alternativo (*A. kuehniella*) apresenta condições favoráveis bem específicas ($\text{CO}_2 < 4,3\%$ e $\text{O}_2 > 18,5\%$) nas quais apresentaram melhores atributos biológicos. O próprio hospedeiro alternativo *A. kuehniella*, apresenta maior fertilidade quando criado em concentrações de CO_2 que não ultrapassem 1200 ppm (Coelho Jr.; Parra, 2013). Estes ajustes podem demorar anos antes de se chegar à criação massal.

Muitas vezes, para amenizar efeitos negativos das condições de criação e melhorar a aptidão de agentes de CB podem-se usar: isolinhagens (linhagens endogâmicas) (Roush, 1990; Stouthamer et al., 1992; Hopper; Roush, 1993; Cook, 1993; Sorati et al., 1996; Coelho Jr. et al., 2016); hibridação intraespecífica; seleção artificial; utilização de estímulos visuais e olfativos; utilização de condições de criação alternantes (Bertin et al., 2021).

A partir desta adequação na criação, o Controle de Qualidade deverá ser uma constante numa criação massal de laboratório, e de preferência, além do acompanhamento pelos responsáveis da criação, que haja uma avaliação periódica por órgãos ligados às Universidades ou Institutos de Pesquisa.

A evolução do Controle Biológico no Brasil, hoje uma realidade, seja com macro ou microrganismos, depende da qualidade dos insetos produzidos, para aumentar a credibilidade desta alternativa de controle, num país em que ainda prevalece o controle químico.

Referências

- ANTOLIN, M. F. A genetic perspective on mating systems and sex ratios of parasitoid wasps. *Population Ecology*, v. 41, p. 29-37, 1999.
- BARTLETT, A. C. Genetic changes during insect domestication. In: KING, E. G.; LEPLA, N. C. (Eds.). *Advances and challenges in insect rearing*. Louisiana: USDA, 1984. p. 2-8.
- BERTIN, A.; PAVINATO, V. A. C.; PARRA, J. R. P. Fitness-related changes in laboratory populations of the egg parasitoid *Trichogramma galloi* and the implications of rearing on factitious hosts. *BioControl*, v. 62, n. 4, p. 435-444. 2017.
- BERTIN, A.; PINTO, A. S.; PARRA, J. R. P. Controle de qualidade de inimigos naturais. In: PARRA, J. R. P.; PINTO, A. S.; NAVA, D. E.; OLIVEIRA, C. R.; DINIZ, A. J. F. (Eds.). *Controle Biológico com Parasitoides e Predadores na Agricultura Brasileira*. Piracicaba: FEALQ, 2021. p. 401-426.
- BJØRNSON, S.; SCHÜTTE, C. Pathogens of mass-produced natural enemies and pollinators. In: van LENTEREN, J. C. (Ed.). *Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures*. Wallingford: CABI Publishing, 2003. p. 133-165.
- BLEICHER, E.; PARRA, J. R. P. Espécies de *Trichogramma* parasitoides de *Alabama argillacea*. III. Determinação das exigências térmicas de três populações. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 25, n. 2, p. 215-219. 1990.
- BOLLER, E. Behavioral aspects of mass-rearing of insects. *Entomophaga*, v. 17, p. 9-25, 1972.
- BUENO, V. H. P. *Controle Biológico de Pragas: Produção massal e Controle de qualidade*. Lavras: Editora UFLA, 2009. 429 p.
- COELHO JR., A.; GEREMIAS, L. D.; ALVES, G. R.; ROCHA, A. C. P.; PARRA, J. R. P. The biology of *Trichogramma pretiosum* as atmospheric O₂ becomes depleted and CO₂ accumulates. *Biological Control*, v. 105, p. 1-5, 2017.

- COELHO JR., A.; PARRA, J. R. P. Effect of carbon dioxide (CO₂) on mortality and reproduction of *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879), in mass rearing, aiming at the production of *Trichogramma* spp. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 85, p. 823-831, 2013.
- COELHO JR., A.; RUGMAN-JONES, P. F.; REIGADA, C.; STOUTHAMER, R.; PARRA, J. R. P. Laboratory performance predicts the success of field releases in inbred lines of the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *PLoS ONE*, v. 11, n. 1, e0146153, 2016.
- COELHO JR., A.; STOUTHAMER, R.; PARRA, J. R. P. Flight propensity of isofemale lines of *Trichogramma pretiosum* Riley in two relative humidity levels. *Florida Entomologist*, v. 101, p. 364-368, 2018.
- CÓNSOLI, F. L.; PARRA, J. R. P. Biology of *Trichogramma galloi* and *T. pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared in vitro and in vivo. *Annals of the Entomological Society of America*, v. 89, n. 6, p. 828-834, 1996.
- COOK, J. M. Inbred Lines as Reservoirs of Sex Alleles in Parasitoid Rearing Programs. *Environmental Entomology*, v. 22, n. 6, p. 1213-1216, 1993.
- CROW, J. F.; KIMURA, M. *An Introduction to population genetics theory*. New York: Harper and Row, 1970. 656 p.
- DUTTON, A.; BIGLER, F. Flight activity assessment of the egg parasitoid *Trichogramma brassicae* (Hym.: Trichogrammatidae) in laboratory and field conditions. *Entomophaga*, v. 40, n. 2, p. 223-233, 1995
- FABRITIUS K. Investigations on inbreeding of *Muscidifurax raptor* under laboratory conditions (Hymenoptera: Pteromalidae). *Entomologia Generalis*, v. 9, p. 237-241, 1984
- FINNEY, G. L.; FISHER, T. W. Culture of entomophagus insects and their host. In: DEBACH, P.; SCHLINGER, E. I. (Orgs.), *Biological Control of Pests and Weeds*. London: Chapman e Hall, 1964. p. 328-355.
- FRANKHAM, R. Genetic adaptation to captivity in species conservation programs. *Molecular Ecology*, v. 17, p. 325-333, 2008.
- GANDOLFI, M.; MATTIACCI, L.; DORN, S. Mechanisms of behavioral alterations of parasitoids reared in artificial systems. *Journal of Chemical Ecology*, v. 29, n. 8, p. 1871-1887, 2003.
- GRENIER, S.; DE CLERCQ, P. Comparison of artificially versus naturally reared natural enemies and their potential for use in biological control. In: Van LENTEREN, J. C. (Ed.). *Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures*. Wallingford: CABI Publishing, 2003. p. 115-131.
- HOPPER, K. R.; ROUSH, R. T. Mate Finding, Dispersal, Number Released, and the Success of Biological Control Introductions. *Ecological Entomology*, v. 18, n. 4, p. 321-331, 1993.
- ITO, Y.; YMAGISHI, M. Sperm Competition in the Melon Fly, *Dacus cucurbitae* (Diptera: Tephritidae): Effects of Sequential Matings with Normal and Virgin or Non-Virgin Sterile Males. *Applied Entomology and Zoology*, v. 24, n. 4, p. 466-477, 1989.
- LAING, J. E.; HERATY, J. M. Establishment in Canada of the parasite *Apanteles pedis* Nixon on the spotted tentiform leafminer, *Phyllonorycter blancardella* (Fabr.) (Lepidoptera, Gracillariidae). *Environmental Entomology*, v. 10, n. 6, p. 933-935, 1981.
- LEGNER, E. F. Prolonged culture and inbreeding effects on reproductive rates of 2 Pteromalid parasites of muscoid flies. *Annals of the Entomological Society of America*, v. 72, p. 114-118, 1979.
- LEPPLA, N. C. Aspects of total quality control for the production of natural enemies. In: van LENTEREN, J. C. (Ed.). *Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures*. Wallingford: CABI, 2003. p. 19-24.
- LEPPLA, N.C. Concepts and Methods of Quality Assurance for Mass-Reared Parasitoids and Predators. In: MORALES-RAMOS, J. A.; ROJAS, M. G.; SHAPIRO-ILAN, D. I. (Eds.). *Mass Production of Beneficial Organisms*. Academic Press, 2014, p. 277-317.
- LEPPLA, N. C.; ADAMS, F. *Insect mass-rearing technology, principles and applications*. Washington DC: USDA, 1987. 20 p.
- LUNA, M. G.; HAWKINS, B. A. Effects of inbreeding versus outbreeding in *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Environmental Entomology*, v. 33, p. 765-775, 2004.
- MACKAUER, M. Genetic aspects of insect production. *Entomophaga*, v. 17, n. 1, p. 27-48, 1972a.
- MACKAUER, M. Genetic Problems in the Production of Biological Control Agents. *Annual Review of Entomology*, v. 21, p. 369-385, 1972b.
- MARGAN, S. H.; NURTHEN, R. K.; MONTGOMERY, M. E.; WOODWORTH, L. M.; LOWE, E. H.; BRISCOE, D. A.; FRANKHAM, R. Single large or several small? Population fragmentation in the captive management of endangered species. *ZooBiology*, v. 17, p. 467-480, 1998.
- MEER, M. M. M. van.; KAN, F. J. P. M. van.; BREEUWER, J. A. J.; STOUTHAMER, R. Identification of symbionts associated with parthenogenesis in *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae) and *Diplolepis rosae* (Hymenoptera: Cynipidae). *Proceedings of the Section Experimental and Applied Entomology of the Netherlands Entomological Society*, v. 6, p. 81-86, 1995.

- OMWEGA, C. O.; OVERHOLT, W. A. Genetic changes occurring during laboratory rearing of *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae), an imported parasitoid for the control of gramineous stem borers in Africa. **African Entomology**, v. 4, n. 2, p. 231-237, 1996.
- PARRA, J. R. P. Criação de insetos para estudos com patógenos. In: ALVES, S. B. **Controle Microbiano de Insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 1015-1038.
- PARRA, J. R. P. Índices nutricionais para medir consumo e utilização de alimentos por insetos. In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. **Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado**. Brasília, DF: Embrapa Informações Tecnológicas, 2009. p. 37-90.
- PARRA, J. R. P. Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para a produção de *Trichogramma*. In: PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Eds.), **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997. p. 121-150.
- PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. Controle Biológico: terminologia. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Eds.). **Controle Biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 1-16.
- PARRA, J. R. P.; CÔNSOLI, F. L. Criação massal e controle de qualidade de parasitoides de ovos. In: BUENO, V. H. P. (Ed.) **Controle Biológico de Pragas: produção massal e controle de qualidade**. Lavras: Editora UFLA, 2009. p. 169-197.
- PARRA, J. R. P.; PINTO, A. S.; NAVA, D. E.; OLIVEIRA, C. R.; DINIZ, A. J. F. Perspectivas e desafios do controle biológico no Brasil. In: PARRA, J. R. P.; PINTO, A. S.; NAVA, D. E.; OLIVEIRA, C. R.; DINIZ, A. J. F. (Eds.). **Controle Biológico com Parasitoides e Predadores na Agricultura Brasileira**. Piracicaba: FEALQ, 2021. p. 401-426.
- PREZOTTI, L.; PARRA, J. R. P. Controle de qualidade em criações massais de parasitoides e predadores. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Eds.). **Controle Biológico no Brasil: Parasitoides e Predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 295-308.
- PREZOTTI, L.; PARRA, J. R. P.; VENCOSKY, R.; COELHO, A. S. G.; CRUZ, I. Effect of the size of the founder population on the quality of sexual populations of *Trichogramma pretiosum* in laboratory. **Biological Control**, v. 30, p. 174-180, 2004.
- PREZOTTI, L.; PARRA, J. R. P.; VENCOSKY, R.; DIAS, C. T. S.; CRUZ, I.; CHAGAS, M. C. M. Teste de voo como critério de avaliação da qualidade de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae): adaptação de metodologia. **Neotropical Entomology**, v. 31, n. 3, p. 411-417, 2002.
- QUEIROZ, A. P.; BUENO, A. D. F.; POMARI-FERNANDES, A.; GRANDE, M. L. M.; BORTOLOTTI, O. C.; SILVA, D. M. Quality control of *Telenomus remus* (Hymenoptera : Platygasteridae) reared on the factitious host *Coryra cephalonica* (Lepidoptera : Pyralidae) for successive generations. **Bulletin of Entomological Research**, v. 107, n. 6, p. 791-798, 2017.
- ROSSI, M. M. As interrupções de desenvolvimento em *Trichogramma*. In: PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Eds.). **Trichogramma e o Controle Biológico Aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997. p. 151-173.
- ROUSH, R. T. Genetic variation in natural enemies: critical issues for colonization in biological control. In: MACKAUER, M.; EHLER, L. E.; ROLAND, J. **Critical Issues In Biological Control**. Andover: Intercept, 1990. p. 263-288.
- SMITH, C. **Insect Colonization and Mass Production**. Cambridge: Academic Press, 1966. 640 p.
- SORATI, M.; NEWMAN, M.; HOFFMANN, A. A. Inbreeding and incompatibility in *Trichogramma brassicae*: Evidence and implications for quality control. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 78, n. 3, p. 283-290, 1996.
- STOUTHAMER, R.; LUCK, R. F.; HAMILTON, W. D. Antibiotics cause parthenogenetic *Trichogramma* (Hymenoptera/Trichogrammatidae) to revert to sex. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 87, n. 7, p. 2424-2427, 1990.
- STOUTHAMER, R.; LUCK, R. F.; WERREN, J. H. Genetics of Sex Determination and the Improvement of Biological Control Using Parasitoids. **Environmental Entomology**, v. 21, n. 3, p. 427-435, 1992.
- UNRUH, T. R.; WHITE, W.; GONZALEZ, D.; GORDH, G.; LUCK, R. F. Heterozygosity and effective size in laboratory populations of *Aphidius ervi* [Hym, Aphidiidae]. **Entomophaga**, v. 28, n. 3, p. 245-258, 1983.
- VAN LENTEREN, J. C. (Ed.) **Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures**. Wallingford: CABI, 2003. 352 p.
- VAN LENTEREN, J. C. Controle de qualidade de agentes de controle biológico produzidos massalmente. In: BUENO, V. H. P. (Ed.). **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. Lavras: Editora UFLA, 2009a. p.311-337.
- VAN LENTEREN, J. C. Testes para o controle de qualidade de agentes de controle biológico comercializados. In: BUENO, V. H. P. (Ed.). **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. Lavras: Editora UFLA, 2009b. p.339-370.
- VAN LENTEREN, J. C.; HALE, A.; KLAPWIJK, J. N.; Van SCHELT, J.; STEINBERG, S. Guidelines for quality control of commercially produced natural enemies. In: Van LENTEREN, J. C. (Ed.) **Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures**. Wallingford: CABI, 2003. p. 1-8.

VAN LENTEREN, J. C.; Van DROST, Y. C.; Van ROERMUND, H. J. W.; POSTHUMADOODEMAN, C. J. A. M. Aphelinid parasitoids as sustainable biological control agents in greenhouses. **Journal of Applied Entomology**, v. 121, n. 9-10, p. 473-485, 1997.

VEIGA, A. C. P.; VACARI, A. M.; VOLPE, H. X. L.; LAURENTIS, V. L.; BORTOLI, S. A. Quality control of *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) from different Brazilian bio-factories. **Biocontrol Science and Technology**, v. 23, n. 6, p. 665-673, 2013.

WAAGE, J. K.; CARL, R. P.; MILLS, N. C.; GREATHEAD, D. J. Rearing entomophagous insects. In: SINGH, P.; MOORE, R. F. (Eds.). **Handbook of insect rearing**. Amsterdam: Elsevier, 1985. p. 45-66.

WOODWORTH, L. M.; MONTGOMERY, M. E.; BRISCOE, D. A.; FRANKHAM, R. Rapid genetic deterioration in captive populations: Causes and conservation implications. **Conservation Genetics**, v. 3, p. 277-288, 2002.

Controle de qualidade de produtos microbiológicos

Natasha Sant'Anna Iwanicki

Italo Delalibera Júnior

Marcos Rodrigues de Faria

Rogério Biaggioni Lopes

Marcio Martinello Sanches

Marlinda Lobo de Souza

Claudine Dinali Santos Seixas

Daniel R. Sosa-Gómez

Introdução

O controle de qualidade de bioinsumos à base de microrganismos é definido como um conjunto de procedimentos de ações preventivas e corretivas que visam garantir que o produto final seja seguro, viável e eficaz. Esses procedimentos são implementados em todas as fases do desenvolvimento do bioinsumo, iniciando pelas etapas de confirmação da identidade taxonômica, preservação adequada do microrganismo, produção *in vitro* ou *in vivo*, estabilização e armazenamento e terminando pelos testes para confirmação de sua eficácia.

Os bioinsumos à base de microrganismos aplicados na cultura da soja são compostos por fungos, bactérias ou vírus, usados no manejo de insetos-praga ou fitopatógenos. No caso de fungos à bactérias, podem ainda trazer benefícios para as plantas pelo estabelecimento de relações simbióticas. Já os produtos à base de vírus têm sido destinados exclusivamente ao controle de insetos.

Os fungos empregados nos bioinsumos podem ser classificados como: entomopatogênicos, a exemplo de *Beauveria bassiana*, *Cordyceps (Isaria) javanica*, *Cordyceps (Isaria) fumosorosea*, *Cordyceps (Isaria) fumosorosea* e *Metarhizium anisopliae*, utilizados no controle de insetos como mosca-branca (*Bemisia tabaci*) e ácaro-rajado (*Tetranychus urticae*); micropatogênicos, como *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma asperellum*, aplicados para o controle de doenças fúngicas como a tombamento e morte em reboleira (*Rhizoctonia solani*) e o mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*), ou nematocidas como é o caso de *Pochonia chlamydosporia* e *Purpureocillium (Paecilomyces) lilacinus* aplicados para o controle de nematoide de galhas (*Meloidogyne* spp.) e *Pratylenchus brachyurus* (Coutinho, 2018; Loureiro et al., 2020).

Bioinsumos constituídos por bactérias são usados por exemplo, na fixação de nitrogênio por *Bradyrhizobium japonicum*, controle de lagartas desfolhadoras por *Bacillus thuringiensis*, controle de nematoides por *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus firmus*, *Bacillus methylothrophicus* e controle de doenças como o mofo-branco por *B. subtilis* e *B. amyloliquefaciens*. Alguns fungos e bactérias podem também atuar de forma indireta no controle de pragas e doenças pela ativação do sistema de defesa da planta. Além dessas funções, fungos e bactérias podem promover crescimento da parte aérea e radicular e podem disponibilizar nutrientes para as plantas, como a solubilização de fósforo e a fixação de nitrogênio.

Em contraste com a versatilidade de funções e o grande número de bioinsumos registrados a base de bactérias e fungos, os vírus representam o grupo de microrganismos de registros recentes disponíveis para manejo de insetos em lavouras. Esses microrganismos são altamente específicos comparativamente aos fungos e às bactérias e são empregados no controle de lagartas desfolhadoras, como é o caso de diversos representantes da família Baculoviridae, como *Helicoverpa armigera* nucleopolyhedrovirus (HearNPV), *Chrysodeixis includens* nucleopolyhedrovirus (ChinNPV), *Spodoptera frugiperda* nucleopolyhedrovirus (SfMNPV) e *Anticarsia gemmatilis* multiple nucleopolyhedrovirus (AgMNPV) (Sosa-Gómez et al., 2020).

Um produto microbiano deve ser constituído por isolado previamente selecionado em laboratório e cuja eficácia tenha sido confirmada a campo, devendo ainda apresentar satisfatório rendimento industrial. Ainda, de acordo com a literatura (Jenkins et al., 1998; Jenkins; Grzywacz, 2000; Ravensberg, 2011; Faria et al., 2022a), os principais parâmetros a serem considerados no controle de qualidade de produtos comerciais à base de microrganismos são:

- identidade do microrganismo;
- concentração de unidades infectivas e/ou vigorosos por kg ou L da preparação ou formulação;
- virulência das unidades infectivas (quando o produto é registrado em conformidade com a estratégia inundativa de controle biológico)
- natureza e teor de contaminantes;
- vida de prateleira em temperatura representativa;
- características físico-químicas associadas ao produto.

Para cada parâmetro, há padrões e protocolos a serem seguidos para se obter produtos com boas especificações. A grande diversidade e as particularidades de cada microrganismo exigem processos de produção distintos, tornando o controle de qualidade de bioinsumos uma etapa complexa. No entanto, independente das peculiaridades, o controle de qualidade é indispensável em qualquer unidade de produção, indústria ou fazenda, pois visa garantir a reprodutibilidade do processo, a padronização do produto, a segurança ao ambiente e ao ser humano, a eliminação ou redução de contaminantes a níveis aceitáveis e a eficácia em campo. A comercialização de produtos de forma irregular, com baixa qualidade e fora de padrões pré-estabelecidos podem comprometer a confiabilidade no segmento de biocontrole.

Diretrizes que esclareçam os processos de controle de qualidade se fazem imperativas dentro do cenário atual de crescimento da adoção de bioinsumos na agricultura brasileira, das novas modalidades de produção de microrganismos e da exploração da biodiversidade. Neste capítulo abordaremos os principais processos envolvidos no controle de qualidade de bioinsumos, principalmente à base de microrganismos destinados ao controle de pragas tendo como modelo a aplicação na cultura da soja.

Identificação taxonômica e preservação

A correta identificação de um microrganismo é o primeiro passo para o sucesso de um programa de controle de qualidade. Essa etapa está diretamente relacionada à eficácia do bioinsumo em campo e à segurança do processo de produção. É primordial que a indústria se preocupe em identificar corretamente os microrganismos prospectados, produzidos e comercializados. Essa atividade é usualmente realizada por taxonomistas ou pessoas experientes e treinadas e, se possível, validada por instituições ou laboratórios especializados.

Para a identificação são utilizadas ferramentas que dependem do grupo de microrganismo envolvido e frequentemente são utilizadas técnicas moleculares, testes bioquímicos, análises morfológicas das colônias e das estruturas celulares. No caso dos baculovírus a caracterização morfológica é feita por microscopia eletrônica de varredura e de transmissão. Para a maioria dos microrganismos as técnicas moleculares são eficazes e mais discriminatórias, em muitos casos são as únicas capazes de distinguir espécies de um mesmo gênero. Isso é devido à grande semelhança morfológica e bioquímica entre algumas espécies. Portanto, essas técnicas geralmente são empregadas para um primeiro diagnóstico ou em conjunto com as técnicas moleculares.

O sequenciamento de regiões específicas do genoma é a principal ferramenta molecular utilizada na identificação de espécies de microrganismos. Para cada gênero existem genes ou regiões intergênicas informativas, denominados marcadores moleculares, que apresentam um nível de polimorfismo adequado para diferenciar as espécies. Existe uma tendência entre os estudiosos de que a análise conjunta de múltiplos genes informativos confere maior confiabilidade na identificação de uma determinada espécie. Na maioria das vezes, a utilização desses marcadores permite diferenciar com sucesso espécies de bactérias e fungos. Uma vez obtidas, as sequências dos marcadores moleculares são editadas em programas específicos com o auxílio do cromatograma, para correção de possíveis erros de sequenciamento, concatenadas e alinhadas com sequências homólogas das mesmas regiões do genoma, de outros(as) isolados/cepas, incluindo sequências de isolados/cepas de referência de espécies do gênero estudado. Posteriormente, uma análise filogenética é realizada para determinar os clados e a inferência da espécie do organismo de interesse.

A identificação molecular também tem sido empregada para caracterizar e possibilitar a distinção de isolados de uma mesma espécie. Para esse fim, marcadores moleculares do tipo microssatélites têm sido usados com sucesso no monitoramento de isolados fúngicos aplicados em campo, como por exemplo, no monitoramento de isolados comerciais de *Metarhizium anisopliae* e *M. robertsii* (Castro et al., 2018; Iwanicki et al., 2019) e de um isolado comercial de *Beauveria bassiana* (Reineke et al., 2014). Nos trabalhos citados, os autores distinguiram os isolados aplicados daqueles nativos. Os microssatélites podem ser empregados também para diferenciar isolados de uma mesma espécie de fungo produzidos em uma mesma biofábrica. Desta forma, é possível criar uma identidade única ou um “fingerprint” para cada isolado, o que pode ser muito útil na detecção de possíveis contaminações cruzadas e como diagnóstico para a empresa. Com a redução do custo de sequenciamento, em um futuro próximo a identificação molecular de isolados e espécies será amplamente difundida e se tornará uma atividade corriqueira incorporada nos protocolos de controle de qualidade dos laboratórios das biofábricas.

A identificação inequívoca dos vírus de insetos é realizada por sequenciamento do genoma. Entretanto, técnicas como a de Restriction Endonuclease Analysis (REN) podem ser utilizadas rotineiramente para verificar a identidade genética do isolado e para detectar a possível ocorrência de variantes durante o processo de produção. Existem protocolos já publicados para essas análises moleculares (O'Reilly et al. 1992; Moore, 2002; Costa et al., 2005; Sanches et al., 2019).

Uma vez obtido o microrganismo puro o passo posterior à sua identificação é sua preservação, para garantir culturas estoques para usos posteriores e para preservar a vitalidade e as características genéticas do mesmo. É sabido que repicagens consecutivas em meio de cultura de fungos e bactérias podem levar à degeneração genética pelo acúmulo de mutações e, conseqüentemente, perda de características originais das cepas e isolados como virulência e características úteis para a produção massal, entre outras. Da mesma forma, a geração de mutantes também pode ocorrer quando se replica, sucessivamente, baculovírus em cultura de células de inseto (Krell, 1996; Moscardi et al., 2011). Portanto, a preservação dos microrganismos obtidos do primeiro isolamento do ambiente, de preferência utilizando mais de um método (armazenamento em N₂ líquido, liofilização, ultrafreezer de -80 °C, entre outros), é primordial para garantir a reprodutibilidade dos processos de produção em grande escala e dos resultados de eficácia. No entanto, a escolha dos métodos de preservação mais adequados deve ser ponderada com base nas características de cada microrganismo e pelas vantagens e desvantagens de cada método.

Identificação taxonômica

Bactérias

A quase totalidade de bactérias utilizadas para promoção de crescimento em soja e registradas para controle de insetos-praga e doenças no Brasil pertence ao gênero *Bacillus*, versátil grupo de bactérias Gram-positivas. *Bacillus* são bactérias comumente encontradas no solo, com formato bastonete, resistentes a fatores adversos e, que em condições específicas, produzem endósporos e uma grande diversidade de antibióticos e metabólitos (Fisher; Garczynski, 2012; Tiwari et al., 2019). Dentre as espécies mais conhecidas e empregadas na agricultura brasileira estão *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefasciens*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus methylophilicus* e *Bacillus velezensis* (Mapa, 2022).

A primeira etapa para identificação de *Bacillus* é a obtenção de colônias puras de células. Essa etapa é fundamental para garantir a manipulação de uma única espécie uma vez que muitos *Bacillus* são morfológicamente semelhantes. Essas colônias podem ser obtidas, por exemplo, pelo método do plaqueamento em estrias de suspensões de bactérias diluídas em meio sólido como ágar nutriente, Luria Bertani ou ágar triptona de soja, seguido por incubação a 30 °C por 16-24 h. Uma vez obtida a colônia isolada pura, faz-se necessário o crescimento dessas bactérias em meio sólido ou líquido por 48 h a 30 °C e 250 rpm, para então realizar a avaliação das características morfológicas aparentes ao longo das fases de cultivo, testes bioquímicos e sequenciamento para confirmar a espécie.

Os métodos morfológicos consistem na visualização em microscópio com contraste de fase no aumento de 1000x com o auxílio de óleo de imersão, de características da cultura de *Bacillus* como a presença de cristais, tamanho de esporos, motilidade de células vegetativas, forma e posição do esporo (Fisher;

Garczynski, 2012; Monnerat et al., 2020). Muitas dessas características permitem um rápido diagnóstico preliminar. Por exemplo, a presença de cristais proteicos no meio de cultivo é uma característica da espécie *B. thuringiensis*, que pode ser facilmente detectada em microscópio com contraste de fase. Além desses aspectos, algumas espécies de *Bacillus* apresentam colônias com características específicas que auxiliam na identificação, como por exemplo, superfície lisa ou rugosa, bordas onduladas ou serrilhadas cores opacas ou brilhosas, entre outras. Mais detalhes sobre os métodos morfológicos para identificação de algumas espécies de *Bacillus* utilizados na agricultura podem ser encontrados em Fisher e Garczynski (2012) e Monnerat et al. (2020).

Métodos bioquímicos consistem em testes laboratoriais como coloração Gram, que distingue bactérias Gram-positivas, como *Bacillus*, de Gram-negativas; habilidade de fermentar manitol, uma vez que espécies do grupo *B. cereus lato sensu* (que inclui *B. thuringiensis* e *B. anthracis*) não são capazes de fermentar esse álcool, o que os difere de outros microrganismos esporulantes; atividade hemolítica; produção de lecitinase; sensibilidade à penicilina, entre outros, ou características de mobilidade que diferencia, por exemplo, *B. anthracis* e *B. mycooides* de *B. thuringiensis* (Jääskeläinen, 2008; Fisher; Garczynski, 2012).

Os métodos morfológicos e bioquímicos geralmente são empregados em uma primeira análise. No entanto, para uma correta identificação das espécies, é imprescindível que esses métodos sejam complementados com a identificação molecular, feita por meio da análise de sequências de regiões genômicas específicas. No caso de *Bacillus*, a identificação é realizada com a análise de sequências de múltiplos genes, a maioria de genes constitutivos que são necessários para a manutenção da função celular básica (housekeeping). Dentre eles, o mais conhecido é o RNA ribossômico 16S (16S rRNA). Para as espécies pertencentes ao grupo de *Bacillus cereus*, ou *B. cereus lato sensu*, que inclui *B. thuringiensis* e espécies que podem causar problemas à saúde humana, como *B. cereus stricto sensu*, patógeno oportunista que produz toxinas prejudiciais à saúde e *B. anthracis*, agente etiológico do carbúnculo hemático, tem-se recomendado sua diferenciação pelo sequenciamento do gene *23S rRNA*, *gyrB* (Bavykin et al., 2004) e genes dos plasmídeos *pXO1* e *pXO2* (Zasada, 2020).

No caso do grupo de *B. subtilis* que incluem espécies como *B. subtilis stricto sensu*, *B. amyloliquefaciens*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus methylotrophicus* e *Bacillus velezensis*, além do gene *16S rRNA*, é recomendado o sequenciamento de genes como *girasse A (gyrA)*, *RNA polymerase subunidade B (rpoB)*, *5'-phosphoribosyl-5-aminoimidazole-4-carboxamide formyltransferase (purH)*, *DNA polymerase III (polC)* e *60 kDa heat-shock protein groEL (groEL)* (Rooney et al., 2009; Dunlap, 2019).

Bradyrhizobium pertence a um grupo diverso de bactérias diazotróficas, Gram-negativas, aeróbicas, com capacidade de estabelecer simbiose com plantas leguminosas amplamente utilizado em soja. A identificação específica dessas bactérias também é realizada por meio da análise multilocus sendo o gene 16S rRNA empregado para separação de gêneros. Alguns dos genes utilizados como marcadores filogenéticos na classificação de rizóbios são os da *ATP sintase subunidade beta (atpD)*, da *recombinase A (recA)*, da *glutamina sintetase tipo I (glnA)* e *tipo II (glnB)*, da *chaperona (dnaK)*, da *citrate sintase I (gltA)* e da *RNA polimerase subunidade beta (rpoB)* (Aserse et al., 2012; Azevedo et al., 2015; Ferraz Helene et al., 2020).

Fungos

Os fungos são identificados, quanto ao gênero, por meio de análises morfológicas de colônias e estruturas celulares, e quanto à espécie, por meio do sequenciamento de um ou múltiplos genes. Diferentemente do que é feito para bactérias, testes bioquímicos não são empregados para diferenciar espécies de fungos, embora alguns possam ser bastante úteis para diferenciar características qualitativas e quantitativas de alguns isolados como maior ou menor habilidade de produzir fitohormônios e enzimas envolvidas no processo infectivo ou de colonização de plantas.

O primeiro passo para a correta identificação é a obtenção de colônias monospóricas do fungo de interesse, garantindo assim que a manipulação será feita de um único microrganismo. Colônias monospóricas podem ser obtidas, por exemplo, por plaqueamento de suspensões diluídas de conídios em meio de batata dextrose ágar, meios completos ou meios de cultura específicos (Goettel; Inglis, 1997). Após a incubação, sob microscópio óptico, conídios germinados são transferidos individualmente, para o centro de uma nova placa com meio de cultivo em câmaras de fluxo de ar estéril. Em seguida, o fungo é incubado até que cresça e esporule. Obtida uma colônia proveniente de um único conídio, pode-se prosseguir com a análise de estruturas morfológicas da colônia, preservação e identificação molecular por meio da extração, da purificação e da amplificação do DNA, bem como o sequenciamento de regiões do genoma.

Métodos morfológicos consistem em seguir chaves taxonômicas, que permitem a identificação do gênero de fungos. As chaves dicotômicas compreendem a análise de estruturas desses fungos como: presença ou não de septos nas células vegetativas, formato, tipo e dimensões de estruturas reprodutivas, número de septos em esporos coloração, entre outros. Embora essas chaves sejam bastante úteis para um diagnóstico inicial, somente o sequenciamento de regiões específicas do genoma são capazes de diferenciar a maioria das espécies. Na Tabela 1 apresentamos a relação das principais regiões genômicas utilizadas para identificação da espécie de alguns fungos utilizados na cultura da soja e os trabalhos de referência que podem ser consultados para obtenção dos protocolos de extração, amplificação e sequenciamento do DNA.

Vírus

Os vírus empregados na cultura da soja são utilizados para controle de diversas espécies de lagartas. Esses vírus pertencem à família Baculoviridae, mais especificamente aos gêneros Alphabaculovirus e Betabaculovirus, nucleopoliedrovírus (NPVs) e granulovírus (GVs), respectivamente, cujo DNA é constituído por fitas duplas (Jehle et al., 2006; Grzywacz, 2017). Os baculovírus são nomeados de acordo com o hospedeiro do qual foram isolados. Por exemplo, o baculovírus isolado da lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatalis*, recebe o nome de *Anticarsia gemmatalis* múltiplo nucleopoliedrovírus (AgMNPV). Entretanto, a taxonomia e a nomenclatura dos vírus encontra-se em revisão com possíveis alterações em sua denominação atual (<https://talk.ictvonline.org/>).

Devido a sua especificidade, a correta identificação de seu hospedeiro pode ser um indício da identidade do vírus. Entretanto, sua patogenicidade deve ser confirmada pelos postulados de Koch e sua identidade definida ou confirmada por sequenciamento do seu genoma.

A identificação morfológica dos baculovírus é realizada por microscopia eletrônica de transmissão (MET) que permite verificar se o vírus é do tipo “simples” ou “múltiplo”, isto é, se o número de

Tabela 1. Relação de genes empregados em análises filogenéticas dos principais gêneros de fungos que compõem bioinsumos para a cultura da soja.

Gênero	Genes empregados em análises filogenéticas	Referências
<i>Beauveria</i>	Região nuclear intergênica B (BLOC), DNA nuclear ribossomal (nrSSU) e (nrLSU), Fator de elongação (EF), β -tubulina (Bt), subunidades da RNA polimerase II (RPB1) e II (RPB2), região ITS (Internal Transcribed Spacer)	Rehner et al. (2006); Rehner et al. (2011); Kepler et al. (2017); Bustamante et al. (2019); Khonsanit et al. (2020).
<i>Metarhizium</i>	Fator de elongação (EF-1-alpha), RNA polimerase I (RPB1) e II (RPB2), Beta-tubulina (Bt), região ITS (Internal Transcribed Spacer)	Bischoff et al. (2009); Rezende et al. (2015); Lopes et al. (2018); Luz et al. (2019); Botelho et al. (2019); Iwanicki et al. (2019); Glare et al. (2021); Fernández-Bravo et al. (2021);
<i>Trichoderma</i>	Fator de elongação (EF), RNA polimerase I (RPB1) e II (RPB2), alpha-actina (act), calmodulina (cal), região ITS (Internal Transcribed Spacer), Fator de elongação (EF)	Dou et al. (2020); López-Quintero et al. (2013); Chaverri et al. (2003); Meyer et al. (2019); Druzhinina e Kubicek (2005)
<i>Pochonia</i>	Beta-tubulina (Bt), ITS (Internal Transcribed Spacer), DNA nuclear ribossomal (nrSSU) e (nrLSU), RNA polimerase I (RPB1) e II (RPB2), Fator de elongação (EF-1-alpha)	Sung et al. (2007); Nonaka et al. (2013); Hirsch et al. (2000); Medina-Canales et al. (2014)
<i>Cordyceps (Isaria)</i>	Fator de elongação (EF), RNA polimerase I (RPB1) e II (RPB2) (TEF), Beta-tubulina (Bt), ITS (Internal Transcribed Spacer)	D'Alessandro et al. (2013); Kepler et al. (2017); Wu et al. (2021); Mongkolsamrit et al. (2018)
<i>Purpureocillium</i>	ITS (Internal Transcribed Spacer), Fator de elongação da tradução (EF), Beta-tubulina (Bt),	Luangsa-ard et al. (2011); Perdomo et al. (2013); Baron et al. (2020)

víriões presentes em cada envelope no corpo de oclusão (em forma de poliedro ou de grânulo) é único (unienvolopado) ou são vários (multienvolopado). O tamanho e o formato do corpo de oclusão também podem ser determinados por microscopia eletrônica de varredura (MEV). A presença de outros vírus (ex. cypovírus) pode ser visualizada por microscopia eletrônica.

Para fins de diferenciação de espécies e estudos filogenéticos, os baculovírus podem ser identificados pelo sequenciamento dos genes *late expression factor 8* (*lef-8*), *late expression factor 9* (*lef-9*) e *polyhedrin/granulin* (*polh/gran*) (Lange et al., 2004; Jehle et al., 2006). Esses genes fazem parte de um conjunto de 38 genes conservados (core genes) encontrados nos gêneros da família Baculoviridae (Miele et al., 2011; Garavaglia et al., 2012; Castro et al., 2020). No entanto, para o sequenciamento é necessária a purificação das partículas virais (Corpos de Oclusão/OBs ou Budded Virus/BVs), seguindo métodos descritos na literatura. Detalhes sobre métodos de extração e purificação de DNA de Baculovírus podem ser consultados em Eberle et al. (2012) e em O'Reilly et al. (1992).

Uma vez obtidas as seqüências dos genes *lef-8*, *lef-9* e *polh*, as mesmas são comparadas com os vírus mais próximos e estabelecidas as distâncias, par a par. Quando realizados os alinhamentos concatenados e as distâncias genéticas são superiores a 0,05 se cumpre o critério para a separação entre espécies (Jehle et al., 2006).

Preservação

Os métodos de preservação de microrganismos mais comumente empregados consistem em etapas de desidratação e redução de oxigênio do ambiente, seguido, para alguns grupos de microrganismos, por resfriamento ou congelamento visando reduzir o metabolismo dos organismos. Dentre os principais

métodos utilizados para preservação de fungos, bactérias e vírus a longo prazo destacam-se a liofilização, o ultracongelamento à $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ e a criopreservação em nitrogênio líquido à $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ e, a curto e médio prazos, destacam-se a secagem de material biológico retido em tiras de papel-filtro, refrigeração de culturas em geladeira, imersão em óleo mineral e adsorção em sílica gel.

Adicionalmente, é muito importante manter bases de dados dos acessos com o máximo de informações possíveis, tais como, identificação da espécie, coletor, local e data de coleta, data da preservação, quantidade de amostras preservadas, publicações associadas à sua caracterização, entre outros. Essas medidas são de extrema relevância para garantir o controle da preservação e planejar ações como ativação dos microrganismos a cada tempo específico entre outras práticas.

Curto e médio prazos

A forma mais simples de preservar fungos, bactérias e vírus para uso corriqueiro é a manutenção em geladeira de colônias puras e tecidos do hospedeiro infectado pelo microrganismo, por exemplo, contendo partículas virais. Embora esse seja um método simples, a repicagem contínua para manutenção de colônias de fungos ou bactérias e vírus em laboratório deve ser realizada com cautela. Esse método pode levar à rápida degeneração genética dos microrganismos e consequente perda das características iniciais, além de proporcionar altas chances de contaminação do material armazenado.

Para bactérias esporulantes do gênero *Bacillus* uma forma bastante empregada e pouco onerosa para preservação, a curto e médio prazos, é o uso de tiras de papel-filtro estéreis, imersas por pelo menos 30 minutos em culturas com células vegetativas e/ou esporos, secas e armazenadas em tubos criogênicos em geladeira podendo conter ou não sílica gel (Monnerat et al., 2020). Alternativamente, após a completa esporulação em meio líquido, a cultura pode ser aquecida à $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 12 minutos para remoção de fases vegetativas e submetidas por duas semanas a uma secagem à $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ dentro de criotubos. Após esse processo os tubos podem ser mantidos em geladeira (Fisher e Garczynski (2012). Para fungos, um método semelhante e barato pode ser adotado para armazenamento em curto período. Fungos crescidos sobre papel filtro esterilizado sobre meio sólido de cultivo, podem ser armazenados em criotubos com sílica gel e mantidos em geladeira à $4\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Outro método barato para preservar fungo é a imersão de colônias esporuladas em óleo mineral seguido do armazenamento em geladeira. Esse método permite preservar estruturas a médio prazo, a depender da espécie de fungo. O óleo evita a desidratação das células e evita trocas gasosas, resultando em baixo metabolismo do fungo.

Longo prazo

A liofilização consiste na desidratação das células pelo processo de sublimação. Inicialmente o material é congelado e depois seco, na presença de vácuo, sendo a umidade removida pela evaporação do gelo, evitando assim a formação de cristais. Embora bastante eficaz em preservar microrganismos, principalmente fungos, por muitos anos em baixa temperatura, a liofilização é um método considerado caro, que exige um equipamento específico (liofilizador) e muitas vezes inviável para as biofábricas no Brasil.

No caso dos fungos empregados na soja e listados na Tabela 1, as estruturas que são comumente liofilizadas são conídios aéreos obtidos em meios de cultura (Humber, 1997). Um processo de custo reduzido e que proporciona bons resultados é o uso de suspensões de conídios em leite desnatado adsorvidos em sílica gel e mantidas a -20 °C. Esse processo realizado adequadamente tem permitido a preservação do fungo *M. rileyi* a longo prazo (>15 anos) (Sosa-Gómez, não publicado).

Já no caso de *Bacillus*, é recomendado o uso do processo de liofilização para preservação de seus esporos, obtidos em meio de cultura líquido (Fisher; Garczynski, 2012).

O método de ultracongelamento consiste no armazenamento de células bacterianas, esporos e hifas e partículas virais a -80 °C em suspensões crioprotetoras. Entre os agentes mais utilizados consta o glicerol, em concentrações de 10% no caso dos fungos, até 25% para bactérias (Fisher; Garczynski, 2012). A criopreservação em nitrogênio líquido é outra técnica empregada para preservar microrganismos, sendo a mais comum em grandes coleções públicas e privadas. Assim como a liofilização, o ultracongelamento e a criopreservação são métodos onerosos pois exige que o laboratório adquira um freezer -80 °C e estrutura para armazenar nitrogênio líquido, assim como sua reposição periódica.

Independente do microrganismo, é recomendável que antes do processo de congelamento, as células de fungos e bactérias sejam suspensas em agentes crioprotetores que preservem a estabilidade no armazenamento e facilitem a reidratação, como por exemplo, o dissacarídeo trealose, o soro bovino, o leite em pó desnatado, o glicerol, a sacarose, entre outros (Hubálek 2003; Wolkers; Walker, 2015; Fisher; Garczynski, 2012). Já os baculovírus podem ser preservados por longos períodos em temperaturas inferiores a -15 °C sem a adição de crioprotetores. Na coleção de vírus entomopatogênicos da Embrapa Soja encontram-se armazenadas suspensões de baculovírus desde o ano de 1980 (Sosa-Gómez, D.R. não pub.). Da mesma forma, amostras de baculovírus encontram-se preservadas, desde a década de 1980, na Coleção de Vírus de Invertebrados da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen) (Souza, M.L. não pub.). Dados sobre os vírus depositados nas coleções estão disponíveis no sistema de informação da Embrapa, baseado na Web, denominado AleloMicro.

Produção e armazenamento de bioinsumos

A produção de microrganismos é um processo que envolve uma sequência de etapas interligadas e que devem ser monitoradas cautelosamente quanto à qualidade do material produzido e das condições de cultivo como temperatura, umidade, pH, consumo de oxigênio e presença de contaminantes. Por outro lado, cuidados durante o armazenamento de produtos à base de microrganismos são primordiais para garantir a manutenção da sua viabilidade até o momento da aplicação no campo. A seguir, abordaremos as principais etapas do processo de produção dos microrganismos e os parâmetros de monitoramento que afetam a qualidade do produto.

Etapas do processo de produção que afetam a qualidade do produto

Preparo do inóculo

A primeira etapa do processo produtivo é a obtenção de um inóculo de qualidade, a partir de uma cultura preservada. Nessa etapa é importante se atentar para a presença de contaminantes durante o

cultivo do microrganismo desejado, a padronização das condições de cultivo e a idade das culturas a serem utilizadas nos lotes de produção. Esses procedimentos são imprescindíveis para reprodutibilidade dos resultados nas etapas seguintes.

A produção dos fungos que têm sido utilizados na cultura da soja inclui diversas espécies, englobando aqueles entomopatogênicos como *B. bassiana*, *C. javanica*, *C. fumosorosea* e *M. anisopliae s.l.* (incluindo *M. rileyi*), micopatogênicos como *Trichoderma* spp. e fungos nematófagos como *P. clamydosporia* e *P. lilacinium*. A produção desses fungos ocorre por um processo denominado fermentação em meio sólido ou em meio líquido, podendo ocorrer em pequena, média ou grande escala.

No caso desses fungos, a obtenção de inóculo começa com a transferência do material preservado para meio de cultura apropriado (Batata Dextrose Ágar, Sabouraud Dextrose Ágar com extrato de levedura ou Sabouraud Maltose Ágar com extrato de levedura). De forma geral, os fungos empregados na cultura da soja e listados na Tabela 1 crescem bem nos meios já mencionados, sendo a única exceção o fungo *M. rileyi*, que cresce e esporula adequadamente em meio SMAY. Uma vez feita a transferência do material preservado sob condições assépticas em câmara de fluxo laminar, as placas são incubadas por duas a três semanas a 26 °C e 12 h de fotofase. Durante esse processo é feito o acompanhamento do crescimento dos fungos em placas visando à detecção de contaminantes como fungos oportunistas, leveduras e bactérias, e a observação da setorização de colônias de fungos, o que pode indicar degeneração/instabilidade genética do material. Nesses casos, o material deve ser descartado e feita uma nova transferência do material preservado. Em última instância, a qualidade do material preservado deve ser revista.

Uma vez obtidas placas com conídios, isentas de contaminantes, os conídios aéreos são raspados e é feito o preparo de uma suspensão entre 10^6 e 10^8 conídios/mL. Essa suspensão será inoculada em matrizes de grãos de cereais ou em meio líquido nutritivo, a depender do processo de produção. Nessa etapa, o inóculo deve ser crescido em meio de cultivo e acompanhado para verificação de possíveis contaminações no processo de preparo.

Na fermentação sólida, grãos de cereais são comumente utilizados como substrato para o crescimento micelial e posterior esporulação dos fungos. No Brasil, o cereal mais utilizado é o arroz parboilizado, embora seja possível utilizar outros grãos mais duros como sorgo, milheto e trigo, em mistura com o arroz parboilizado, visando melhorar oxigenação das matrizes. Independente do grão selecionado, ele pode ser inicialmente embebido em água destilada para hidratação, distribuído em sacos de polipropileno termorresistentes ou em frascos e esterilizados sob pressão e vapor em autoclave à 120 °C por 20 minutos. Esse procedimento elimina fungos e bactérias que possam ocorrer superficialmente e internamente nos grãos. Em seguida, as sacolas ou frascos contendo o substrato são resfriados em temperatura ambiente e abertos e inoculados com uma suspensão de esporos sob condições assépticas em câmara de fluxo laminar. A mistura de substrato mais conídios é homogeneizada manualmente e os sacos/frascos são fechados, mas não vedados por completo, para permitir trocas gasosas. Em seguida, o material é incubado em câmara climatizada à 26 °C, 12h de fotofase por 8 a 15 dias a depender do fungo cultivado. Em uma biofábrica de médio a grande porte, os frascos contendo arroz inoculado com a suspensão de conídios, após a completa esporulação pelo fungo, servirão de inóculo para uma segunda etapa de produção, dessa vez em sacos visando escalonar o processo produtivo. Esse primeiro material é denominado de matriz. A

inoculação de uma grande quantidade de substrato pode ser feita a partir da transferência de uma parte do material esporulado para o substrato estéril ou pelo preparo de suspensões de conídios obtidos da lavagem com água esterilizada do arroz esporulado. É importante destacar que os protocolos descritos anteriormente apresentam inúmeras variações em função da disponibilidade de equipamentos e da infraestrutura local.

No caso da fermentação líquida de fungos, suspensões de conídios são inoculadas em meio líquido apropriado e crescidos por alguns dias, até a obtenção de uma biomassa a ser utilizada para inocular biorreatores herméticos de maior volume. As chances de contaminação durante a obtenção do inóculo na fermentação líquida são menores em relação a fermentação sólida. Esse fato se deve à menor manipulação do material e maiores assepsia e controle das condições de crescimento em frascos de cultivo e biorreatores em relação ao processo de fermentação sólida. Os cuidados no processo de obtenção de inóculo via fermentação líquida estão relacionados ao preparo das suspensões de conídios sob condições assépticas em câmara de fluxo laminar vertical, correta esterilização dos frascos e do meio de cultivo e limpeza da sala ou ambiente onde ficam as incubadoras e os biorreatores.

A obtenção do inóculo de bactérias se inicia com o processo de ativação dos propágulos que se encontram preservados. Por exemplo, no caso de *Bacillus* preservados em tiras de papel, se faz necessário um cultivo prévio em frascos por 72 horas até a completa esporulação. Existem diversos meios de cultivo que permitem a esporulação, por exemplo, Luria Bertani suplementado com sais e meio Embrapa líquido (Monnerat et al., 2020). Uma vez obtidos os esporos, o cultivo é submetido a um choque térmico em banho-maria à 80 °C por 12 minutos e depois em banho de gelo por mais 5 minutos. Em seguida, o cultivo deverá ser analisado quanto à pureza e à concentração de esporos e posterior utilização para inocular frascos de maior volume e biorreatores. Os cuidados no processo de obtenção de inóculo de bactérias são os mesmos mencionados para a obtenção de inóculo de fungos pelo processo de fermentação líquida.

Em contraste com os fungos e bactérias, atualmente todo o processo produtivo de vírus ocorre *in vivo*. Nesse sistema é necessário estabelecer uma criação de insetos, no caso lagartas hospedeiras do vírus a ser produzido. A criação massal de insetos é uma atividade que por si só exige um sistema de monitoramento da qualidade próprio e rigoroso para obtenção de lagartas sadias. A qualidade da colônia de insetos pode ser monitorada por meio do registro das determinações da fecundidade, fertilidade, peso de pupas, porcentagens de insetos deformados e índice de mortalidade. Esse processo pode ser encontrado em detalhes na literatura (Bell et al., 1981; Singh; Moore, 1985; Hunter-Fujita et al., 1998). Nas etapas iniciais e durante o processo de produção faz-se necessário garantir a assepsia da criação de insetos, assim como da alta qualidade e pureza das partículas virais. O inóculo contendo partículas virais deve ser purificado por meio de processos repetidos de centrifugação diferencial ou gradientes de sacarose e filtração visando a remoção de eventuais contaminantes como bactérias, protozoários (Sudhakar et al., 1997) e outros vírus que possam se replicar no corpo do inseto e reduzir a produtividade e a qualidade do vírus de interesse.

As partículas virais purificadas são misturadas à dieta e fornecidas para alimentação de lagartas sadias. Após a ingestão da dieta contaminada, as lagartas são mantidas até a completa propagação do

vírus no corpo, seguido do congelamento dos insetos para posterior processamento para obtenção das partículas virais.

Escalonamento da produção

Uma vez obtido um inóculo de boa qualidade, com ausência de contaminantes, o próximo passo é escalonar a produção com cultivos sucessivos em biorreatores, no caso de processos via fermentação líquida de fungos e bactérias, do cultivo em maior número de sacos com arroz, no caso da fermentação sólida de fungos ou do aumento no número de insetos infectados, no caso dos vírus. Independente do microrganismo, durante o processo de escalonamento é primordial o cuidado com contaminações e as condições de cultivo. O escalonamento da produção deve ser feito de forma cautelosa seguindo protocolos de produção, que incluem controle de parâmetros como temperatura, fotoperíodo, pH, oxigenação, rotação, umidade e tempo de cultivo bem estabelecidos, garantindo assim a segurança e a reprodutibilidade do processo.

A produção de fungos via fermentação sólida faz uso de sacos de arroz inoculados com suspensões de conídios mantidos em salas climatizadas por cerca de 8 a 12 dias até a completa esporulação a depender do fungo cultivado, ou de 3 a 5 dias no caso de a fase de esporulação ser conduzida em bandejas. A cada lote de produção, as salas climatizadas onde serão crescidos os fungos precisam ser previamente desinfestadas com solução de hipoclorito de sódio e, se possível, com luz ultravioleta germicida (UVC) por períodos prolongados devido a sua baixa penetrabilidade. Esse procedimento garante um ambiente asséptico para receber os sacos inoculados com arroz. Durante o período de incubação é importante monitorar o crescimento uniforme do fungo no arroz, principalmente nos primeiros dias em que fungos e bactérias oportunistas e de rápido crescimento podem se multiplicar e colonizar o substrato antes mesmo do fungo de interesse. Sacos contaminados devem ser retirados da sala de crescimento para evitar que sirvam como fonte de contaminações futuras. Recomenda-se também manter os sacos e frascos na horizontal para garantir maior oxigenação entre os grãos, evitando ainda o acúmulo de água, o que pode levar à proliferação de bactérias indesejadas e prejudicar o processo de esporulação. Após a completa colonização dos grãos de arroz pelo fungo, os sacos de arroz podem ser despejados em bandejas para estimular o processo de esporulação em condições de maior oxigenação e alta umidade. No entanto, o momento de abertura dos sacos deve ser avaliado em função do crescimento homogêneo do isolado nos grãos de arroz. A colonização incompleta dos grãos pode dar a oportunidade para microrganismos oportunistas crescerem no substrato.

No processo de escalonamento da produção de propágulos fúngicos e bactérias em meio líquido, o monitoramento do cultivo em biorreatores deve visar garantir os parâmetros ótimos de cultivo dos microrganismos, como por exemplo, aeração, rotação e pH. Geralmente esses parâmetros já são conhecidos e o monitoramento é feito visando à sua manutenção e a observação de eventuais respostas inesperadas, como, por exemplo, grande quantidade de espuma, o que pode indicar contaminação ou problemas na bomba que injeta antiespumante.

A transferência de um caldo fermentado de uma dorna de menor volume para uma de maior volume, contendo meio de cultura, deve ser feita com cautela. Nesse processo, amostragens devem ser feitas para confirmar a pureza do caldo fermentado e a concentração das células produzidas. Por meio desse

procedimento evita-se que possíveis culturas contaminadas sejam utilizadas como inóculo para cultivos em volumes maiores, o que por sua vez, levaria ao desperdício de insumos, energia, tempo e descarte do material final produzido. As amostragens devem visar também a comprovação de que o microrganismo presente no caldo fermentado final corresponda àquele de interesse. Nesse caso, o crescimento em meio de cultivo em placas e a observação de estruturas das células produzidas devem ser usadas para confirmação.

No caso dos vírus o processo de escalonamento da produção passa necessariamente pelo aumento da criação massal de lagartas sadias. Durante esse processo faz-se necessário garantir que as lagartas estejam no instar desejado para que sejam infectadas continuamente por partículas virais inoculadas na dieta. No início e durante o processo de aumento dos níveis de escalonamento os lotes devem ser rotineiramente verificados quanto à presença de contaminantes como cypovirus, iflavírus e microsporídios.

Uma vez transcorrido o período de incubação, as lagartas recentemente mortas ou muito próximas da morte, são coletadas e maceradas para liberação das partículas virais e o caldo resultante é filtrado para remoção do tegumento da lagarta. Em alguns casos o filtrado ainda é concentrado e tratado para remoção de substâncias como lipídeos e microrganismos provenientes do trato digestivo das lagartas. No entanto, para evitar a proliferação de bactérias indesejadas, formulações de baculovírus podem incluir bacteriostáticos que impedem a multiplicação de bactérias existentes. A criação massal de lagartas para fins de produção de vírus é uma tarefa que demanda mão de obra e despesas de manutenção. Portanto, as biofábricas de vírus tradicionais apresentam limitação no escalonamento de suas produções, embora existam empresas com processos automatizados com uso de robôs e menor uso de mão de obra.

Secagem, formulação e armazenamento

Após a etapa de produção de microrganismos em larga escala, faz-se necessário o processamento desse material para torná-lo disponível para comercialização ou para armazenamento visando seu uso futuro. De forma geral, esse processamento pode ser feito pela formulação direta do caldo fermentado ou de partículas virais, como ocorre com a grande maioria das produções com *B. subtilis* e baculovírus formulados como suspensão concentrada; da secagem, separação do substrato e formulação, no caso de fungos produzidos via fermentação sólida, e da formulação e secagem no caso de fungos obtidos via fermentação em meio líquido, de alguns *Bacillus* formulados como pó molhável ou grânulos dispersíveis em água. Independente do processamento, as etapas geralmente envolvem processos de remoção do meio de cultivo, redução do teor de água a níveis preferencialmente inferiores a 5% ou atividade de água inferior a 0,1 aw ou estabilização do caldo fermentado e de suspensões com partículas virais com o uso de estabilizantes. Nessas etapas, especial atenção deve ser dada para a qualidade dos co-formulantes utilizados nas formulações e ao processo de secagem sob condições definidas para cada microrganismo.

A secagem de grãos de arroz com conídios é uma etapa importante para facilitar a extração e garantir a posterior redução do teor de água inferior a 0,1 aw para evitar a proliferação de contaminantes e aumentar a vida útil do produto. Alguns fungos podem apresentar maior ou menor aderência no arroz e, portanto, deve-se estabelecer um protocolo de secagem específico para cada isolado, visando maximizar o processo de extração sem prejudicar a viabilidade dos conídios. A secagem pode ser feita espalhando o arroz esporulado em bandejas em condições de baixa umidade e, posteriormente, quando

o material estiver com baixa umidade, é feita a separação dos conídios do substrato em equipamentos de extração como leito fluidizado, sistema de peneiras, tambores rotativos ou outros equipamentos desenvolvidos especificamente para essa finalidade. Independente do processo, é importante o uso dos equipamentos de proteção individual (EPI) visando proteger principalmente as vias nasais e os olhos do contato com conídios que eventualmente estarão em suspensão no ar. Embora não patogênicos às pessoas imunocompetentes, os conídios aéreos podem causar alergias e irritação nas mucosas nasais e nos olhos.

No caso de baculovírus, o processo de secagem deve ser realizado de forma rápida para evitar a inativação do vírus e prevenir a proliferação de contaminantes. As formulações básicas mais utilizadas são os pós molháveis e as suspensões concentradas (Moscardi, 1999; Sosa-Gómez, 2017). O pH do produto final tem particular relevância, uma vez que os corpos de oclusão são desestabilizados em ambientes alcalinos e pode ocasionar a perda da atividade do produto. Por exemplo, Quiroga-Cubides et al. (2021) estabeleceram para uma formulação sólida pó-molhável à base de baculovírus (GV) limites de pH do produto entre 7 e 7,5 e teores de umidade abaixo de 10%. No caso das formulações em pó a atividade de água menor de 0,4 aw prolonga o tempo de prateleira do produto, devido à menor multiplicação dos contaminantes. A manutenção desses níveis de atividade de água com o tempo, depende da hermeticidade e da permeabilidade seletiva do material utilizado nas embalagens. Além disso, a seleção criteriosa dos inertes e o tamanho de partículas inferior a 20 µm previne a formação de aglomerados e facilita a dispersão do biopesticida na aplicação em campo (Jenkins; Grzywacz, 2000; Quiroga-Cubides et al., 2021).

Uma vez embalado e lacrado, o produto deve ser armazenado em ambientes limpos, secos, podendo ser refrigerados ou não, a depender do microrganismo. No caso de produtos à base de fungos, geralmente recomenda-se o armazenamento em geladeira (4 °C), sendo comum períodos de prateleira de alguns meses, e no caso do armazenamento dos conídios puros e secos, pode-se manter em freezer a -20 °C por períodos mais longos. Em temperatura ambiente (25 °C), os fungos geralmente perdem a viabilidade mais rápido. No caso de *Bacillus*, esses toleram o armazenamento em temperatura ambiente por mais tempo do que os fungos. No entanto, devido à grande diversidade de espécies de *Bacillus* e tipos de formulações que existem no mercado, deve-se sempre consultar a bula do produto para obter informações de armazenamento específicas para a espécie de interesse. De maneira geral, vírus formulados em suspensões líquidas podem ser armazenados pelo mínimo 12 meses em temperaturas de -15 a -20 °C, em salas climatizadas (<25 °C) por seis meses e à temperatura ambiente pode ser mantido por até 2 meses. A atividade pode ser rapidamente reduzida com temperaturas acima de 32 °C.

No Brasil o bioproduto pode percorrer um longo percurso até chegar ao produtor. Nesse cenário, as condições de armazenamento mencionadas anteriormente estendem-se para os meios de transportes. A adoção de caminhões e containers refrigerados e transporte de freezers até as fazendas é uma realidade para muitas biofábricas no Brasil, o que garante as vendas, viabiliza a logística e assegura a manutenção da viabilidade do microrganismo até o momento de aplicação em campo. No caso das produções *on farm*, não há necessidade de armazenamento por longos períodos uma vez que o produto produzido já é logo aplicado em campo. No entanto, dependendo do microrganismo, o produtor deve se atentar com as condições de armazenamento até o momento da aplicação em campo, preferindo manter o material produzido em ambiente refrigerado, seco e não exposto ao sol.

Parâmetros de monitoramento da qualidade

Meio de cultivo e substrato

O meio de cultivo, seja ele artificial ou natural (no caso os insetos usados para propagação de vírus ou grãos de arroz para cultivo de fungos), deve fornecer os nutrientes necessários para o crescimento do microrganismo de interesse. De forma geral, os meios de cultivo são compostos por fonte(s) de carbono, nitrogênio, sais e podem ser suplementados com vitaminas e micronutrientes. Nas biofábricas é comum a utilização de resíduos industriais ricos em nutrientes para compor os meios de cultivo, como, por exemplo, o extrato de levedura, subprodutos provenientes da indústria de processamento do milho e da produção de etanol, respectivamente, utilizados como fonte de proteína e carbono para produção de biomassa. Nesses casos, é recomendável conhecer a procedência e a qualidade desses subprodutos. Devido à variação nos teores de carboidratos e proteínas em função do processo industrial, faz-se necessário, na medida do possível, análises químicas de cada lote adquirido pela biofábrica. Dessa maneira, é possível ajustar as concentrações dos ingredientes de tal forma a padronizar a composição do meio e garantir rendimentos semelhantes entre bateladas. A variação na composição nutricional dos grãos, utilizados como substrato, entre as safras é menor. No entanto, recomenda-se padronizar os fornecedores desses grãos, visando, assim, minimizar possíveis diferenças nutricionais decorrentes de processamentos e regiões produtoras distintos. No caso de cultivo de vírus, especial cuidado deve ser tomado na escolha dos ingredientes que irão compor a dieta das lagartas, atentando-se para a padronização e a escolha de ingredientes isentos de resíduos de inseticidas encontrados, por exemplo, em algumas farinhas.

Deve-se atentar também para correto armazenamento dos ingredientes utilizados nos meios de cultivo. Os armazéns devem ser ambientes limpos, refrigerados (se houver necessidade) e secos. Alguns ingredientes como glucose e maltodextrina podem facilmente empedrar em contato com umidade e outros podem se deteriorar em ambientes com alta temperatura.

Concentração e Pureza

A disponibilização no mercado de produtos com baixa concentração de ingredientes ativos, sobretudo quando apresentam baixa qualidade, é uma das causas dos resultados inconsistentes ainda reportados por usuários. A determinação da concentração e da pureza de uma cultura de células ou de produtos à base de propágulos de fungos, esporos de bactérias e partículas virais devem ser verificadas durante as etapas do processo de produção e no produto final. A concentração traz a informação de quantas células ou partículas infectivas do microrganismo de interesse estão presentes por mililitros em uma suspensão ou por grama de produto ou substrato sólido. Por outro lado, a pureza refere-se à porcentagem de microrganismos contaminantes, como bactérias e fungos oportunistas, na cultura de células ou no produto final. O conhecimento da concentração e da pureza são determinantes para o preparo do inóculo e a continuação ou descarte da produção. Conhecendo a concentração é possível fazer ajustes na quantidade de microrganismos que irão compor o produto final a fim de compensar, por exemplo, a redução da viabilidade dos microrganismos ao longo do tempo de armazenamento.

A avaliação da concentração de propágulos fúngicos, corpos de oclusão de baculovírus e de células vegetativas e esporos de bactérias, pode ser feita por microscopia com o auxílio de câmara de Neubauer.

Durante o preparo do inóculo, do processo produtivo em biorreatores e do produto final, amostras geralmente de 1 mL, 1 g ou 0,1 g são assepticamente retiradas do meio de cultivo ou do produto final e diluídas de 10x a 10.000x em água com algum adjuvante (no caso de propágulos hidrofóbicos como os esporos). A partir de uma diluição seriada é feito a contagem das células, corpos de oclusão e propágulos fúngicos em microscópio óptico sob aumento de 400x ou 1000x. No caso específico de produtos de base oleosa, deve-se retirar o óleo do produto com centrifugações e suspensão em água com espalhante adesivo, antes de proceder com a diluição seriada em água. Mais detalhes desse método podem ser encontrados em Oliveira et al. (2015).

A quantificação dos corpos de oclusão de baculovírus foi considerada um ponto de análise crítico tanto para a etapa de obtenção do ingrediente ativo, quanto para avaliação do produto formulado no estudo de Quiroga-Cubides et al. (2021). A quantificação dos corpos de oclusão (poliedros) de baculovírus do gênero Alphabaculovirus (NPVs), é simples de ser efetuada uma vez obtido o ingrediente ativo. Os poliedros são visíveis ao microscópio óptico como corpos brilhantes refringentes com tamanho de cerca de 1 µm a 15 µm (Grzywacz; Moore, 2017) e podem ser contados por meio de câmara de Neubauer com microscópio óptico convencional ou preferencialmente de contraste de fase. Já no caso de baculovírus do gênero Betabaculovirus (GVs) a observação ao microscópio óptico e quantificação dos corpos de oclusão, conhecidos como grânulos, é mais desafiadora devido ao seu tamanho ainda menor (0,2 µm x 0,5 µm), de forma que sua quantificação requer experiência e a utilização de microscópio de campo escuro (Grzywacz; Moore, 2017). Alternativamente pode ser utilizada a espectrofotometria para a quantificação dos grânulos (Quiroga-Cubides et al., 2021). A análise dos produtos formulados, a quantificação por microscopia ou espectrofotometria é difícil devido aos inertes e adjuvantes adicionados na formulação. Dessa forma, têm sido desenvolvidos protocolos baseados na técnica de PCR em tempo real para a quantificação em produtos à base de Betabaculovirus (Barrera et al., 2016) e Alphabaculovirus (Sanches et al., 2019). Entretanto, técnicas de bioensaios envolvem menor custo e proporcionam informações sobre a atividade inseticida da formulação.

A determinação da concentração de células bacterianas, sejam elas vegetativas ou esporos, pode também ser feita de forma indireta pela leitura da absorbância de uma suspensão em espectrofotômetro. Nesse caso uma curva padrão deve ser estabelecida para que seja possível correlacionar o valor da absorbância com a quantidade de bactérias, determinada por contagem de unidades formadoras de colônia (UFC) ou contagem em câmara de Neubauer. Embora menos preciso do que a contagem direta em câmara, esse método permite uma rápida análise e é adotado em análises corriqueiras.

Outro método bastante empregado, para determinar a concentração de fungos e bactérias em caldos fermentados ou em produtos, é a contagem de UFC. Diferente do método de contagem direta em câmara de Neubauer e da determinação por espectrofotômetro, o método de contagem de UFC permite avaliar a concentração e a viabilidade, concomitantemente, além de detectar presença de contaminantes que crescem no meio de cultivo. A estimativa da concentração de propágulos viáveis tem sido o parâmetro mais adotado no Brasil para avaliação da qualidade dos produtos biológicos à base de fungos. O número de propágulos viáveis tem sido estimado indiretamente (contagem das UFC) ou diretamente (concentração de propágulos viáveis). UFC podem originar-se de propágulos não infectivos e, como tal, não deveriam

ser utilizadas para expressar a concentração nos rótulos de produtos destinados à estratégia inundativa de controle biológico. Por outro lado, o método de contagem de UFC é útil para produtos onde a contagem direta não seja tecnicamente possível, como em preparações ou formulações onde os ingredientes inertes interferem significativamente na visualização dos propágulos infectivos.

A concentração desejável de células num dado produto depende, dentre outros fatores, da estratégia a ser adotada, se controle biológico (CB) inoculativo ou inundativo (Tabela 2). De acordo com Eilenberg et al. (2011), o primeiro pode ser entendido como aquele em que o organismo tem que se multiplicar no ambiente após a aplicação para levar ao controle da praga-alvo. Ou seja, admite-se que produtos biológicos destinados ao controle biológico inoculativo sejam constituídos por propágulos não-infectivos, desde que possam gerar posteriormente estruturas infectivas e promover a redução populacional da praga-alvo. Um exemplo é a incorporação ao solo de grãos colonizados por conídios e hifas do fungo *Beauveria brongniartii* visando ao controle do besouro *Melolontha* spp. em alguns países europeus (Eilenberg et al., 2011; Mayerhofer et al., 2015). Nesse caso, algum tempo após a incorporação ocorre a produção adicional de conídios aéreos a partir de hifas, os quais são necessários para infectar parte considerável da população da praga-alvo.

Por outro lado, na estratégia inundativa a redução populacional observada deve-se exclusivamente, ou majoritariamente, ao organismo liberado. Consequentemente, o produto deve conter elevada concentração de propágulos infectivos, pois não se espera que haja, necessariamente, uma reciclagem no ambiente que resulte na geração de progênie infectiva. Essa modalidade de controle biológico busca uma rápida supressão da praga, sendo a mais usual com fungos entomopatogênicos, tanto no Brasil quanto em outros países (Faria; Wraight, 2007). A natureza e a concentração de propágulos em cada produto depende, portanto, da estratégia de controle a ser adotada, conforme detalhado na Tabela 2.

Para a maioria dos fungos utilizados no controle de artrópodes, de maneira geral busca-se, na estratégia inundativa, liberar um mínimo de $1,0 \times 10^{12}$ propágulos infectivos por hectare, em cada aplicação. Um produto hipotético cuja recomendação seja de 500 g por hectare deveria apresentar, portanto, uma concentração mínima de $2,0 \times 10^{12}$ propágulos infectivos por quilograma. Importante frisar que os propágulos mortos ou moribundos não são infectivos e, dessa forma, todo fabricante deveria fazer os ajustes necessários para garantir a concentração mínima de princípio ativo. O entendimento do que seja “propágulo infectivo” não deve ser reduzido àquele que está viável, mas sim àquele que está vigoroso (= viável e com germinação rápida). A correlação entre a concentração de conídios vigorosos e virulência já foi comprovada, por exemplo, para o fungo *B. bassiana* (Faria et al., 2015) e, muito provavelmente, é verdadeira para a grande maioria das espécies de fungos entomopatogênicos. Idealmente, a concentração nos produtos à base de fungos de artrópodes-praga deveria ser expressa, sempre que possível, na forma de propágulos vigorosos ao invés de viáveis. Até a presente data, a determinação do vigor só foi metodologicamente estabelecida para produtos à base de conídios aéreos, que são os mais comuns nos mercados brasileiro e mundial. Ao contrário de método de contagem de UFC, a estimativa direta permite a visualização do(s) tipo(s) de propágulo(s) que compõe(m) um determinado micopesticida, tornando a estimativa mais precisa, além de possibilitar a determinação do vigor.

Tabela 2. Principais estratégias de controle biológico com emprego de produtos à base de fungos que infectam artrópodes-praga.

	Controle biológico inundativo		Controle biológico inoculativo
Pragas	Associadas à parte aérea das plantas	Associadas ao solo	Associadas ao solo
Propágulos	Esporos aéreos e submersos	Esporos aéreos	Principalmente hifas (micélio, microescleródios) e clamidospores
Doses mínimas de estruturas infectivas	Elevadas ($\geq 10^{12}$ propágulos infectivos ha ⁻¹); não expressar concentração em UFC	Elevadas ($\geq 10^{12}$ propágulos infectivos ha ⁻¹) não expressar concentração em UFC	Baixas (preparações ou formulações sem ou com poucas estruturas infectivas)
O que se busca	Contato direto das estruturas infectivas com a praga-alvo; condições favoráveis para adesão das estruturas infectivas e penetração no alvo	Idem ao anterior	No ambiente onde liberados, espera-se que haja a posterior formação de focos primários da doença e infecções subsequentes
Desafios (durante e após a aplicação)	Garantir o contato e a adesão de grande quantidade de esporos à praga-alvo; prolongar a sobrevivência dos propágulos no ambiente, principalmente, reduzindo o impacto da radiação UV tanto durante a aplicação quanto nas horas subsequentes	Garantir o contato e a adesão de grande quantidade de propágulos à praga-alvo; evitar efeitos deletérios da radiação UV durante a aplicação e/ou quando se visa atingir a praga que se encontra na superfície do solo	Garantir que o fungo aplicado consiga estabelecer-se num ambiente repleto de outros microrganismos e, posteriormente, que gere quantidade suficiente de estruturas infectivas, e que essas venham a ter contato direto com a praga-alvo

Modificado de Faria et al. (2022a).

Embora no Brasil já tenhamos o registro de produtos com concentrações bastante elevadas, inclusive $1,0 \times 10^{13}$ propágulos viáveis por quilograma ou litro, infelizmente a legislação brasileira não estabelece um padrão mínimo para esse parâmetro. Produtos com concentrações de $1,0 \times 10^7$ propágulos por litro (ou seja, um milhão de vezes menos concentrados que os anteriormente mencionados), têm sido registrados para o controle de pragas aéreas. Igualmente preocupante é o registro de produtos constituídos exclusivamente ou quase que exclusivamente por propágulos não-infectivos e que visam ao controle de pragas aéreas pela estratégia inundativa, ou mesmo de pragas de solo de difícil alcance, porém sem um robusto lastro científico.

As contaminações são causadas quase que exclusivamente por bactérias, fungos e leveduras oportunistas. A concentração dos mesmos nos produtos pode ser expressa em porcentagem ou número total por unidade de peso ou volume. A legislação brasileira ainda não estabeleceu a concentração máxima de contaminantes nos biopesticidas comerciais. Por meio de diluições e plaqueamento em meios específicos, a adoção do método de contagem de UFC permite estimar a concentração de cada organismo contaminante. Para cada lote, o número de placas de Petri com meios específicos deve ser grande o suficiente para garantir a obtenção de resultados confiáveis. Acreditamos que o número total de organismos aeróbicos indesejáveis não deva ser, num primeiro momento, superior a 5×10^6 UFC por grama ou mililitro. Gradativamente, valores inferiores poderão ser estabelecidos, até que se chegue a limites próximos de adotados em outros países, normalmente $1,0 \times 10^6$ UFC de contaminantes aeróbicos por grama (Jenkins et al., 1998; OECD 2011). Análises referentes à presença e aos teores de microrganismos perigosos à saúde humana são feitas por algumas biofábricas estrangeiras.

Os principais contaminantes que aparecem em cultivo sob fermentação sólida de fungos são os fungos oportunistas: *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Rhizopus* spp. e *Trichoderma* spp. e bactérias de diversos gêneros. Por outro lado, no processo de cultivo de bactérias e fungos sob fermentação líquida os principais contaminantes são bactérias oportunistas e leveduras. No Brasil, ainda estão sendo estabelecidos os limites máximos aceitáveis de contaminantes em produtos biológicos, especialmente para alguns microrganismos como *Salmonella* sp., coliformes termotolerantes e *Bacillus cereus*, esse último principalmente em amostras de produtos à base de baculovírus devido à presença natural dessas bactérias no trato digestivo de lagartas.

Bactérias do gênero *Enterococcus* também são encontradas em larvas mortas por baculovírus. A contaminação por microrganismos pode ser reduzida quando as larvas são coletadas antes da morte, enquanto que a contaminação por bactérias *Bacillus* saprófitas pode aumentar quando as larvas são coletadas 24 horas após a morte. A concentração aceitável de contaminantes totais sugerida para formulações sólidas é inferior a 5×10^8 UFC.g⁻¹, enquanto que para formulações líquidas o limite estabelecido como seguro foi inferior a 1×10^8 UFC.mL⁻¹ (Jenkins; Grzywacz, 2000). A presença de patógenos humanos na produção de baculovírus não tem sido observada, porém na maior parte dos processos para registro de biopesticidas em outros países tem sido requerido testes para ausência de patógenos específicos como *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Vibrio* spp. e *Escherichia coli* (Grzywacz; Moore, 2017). Discrepâncias quanto à qualidade e quantidade da presença de contaminantes nos produtos comerciais deverão ser definitivamente e estabelecidas.

Viabilidade e Vigor

A viabilidade de células bacterianas e propágulos fúngicos determina a quantidade de células que estão metabolicamente ativas, ou seja, que são capazes de germinar e formar uma colônia, em meio de cultivo. Por outro lado, o vigor é um termo utilizado para informar a velocidade com que conídios de fungos germinam em meio de cultivo (Faria et al., 2015). A rápida germinação é um fator bastante desejável uma vez que, em condições de campo, conídios que germinarem mais rápido ficam menos tempo expostos a fatores ambientais deletérios como a radiação ultravioleta e a baixa umidade relativa, ou podem ser mais virulentos, uma vez que infectam mais rápido seus hospedeiros. O vigor é uma característica intrínseca da genética do isolado, mas que pode variar em função da manipulação do meio de cultivo, da metodologia de processamento ou do tempo de armazenamento do produto. Para determinação da porcentagem de conídios vigorosos em um produto, é feito um ensaio de viabilidade e a contagem da germinação dos conídios é determinada após um período de incubação mais curto do que o usual, por exemplo, 16 horas para *B. bassiana* (Faria et al., 2015), quando o convencional seria uma incubação por 20-24 horas. Conídios vigorosos são considerados aqueles que germinarem dentro das 16 horas de incubação.

No caso dos fungos, a viabilidade pode ser determinada de forma direta, pela contagem de conídios germinados em meio de cultura ou indireta, pela contagem de UFC, como descrito no tópico 2. No primeiro caso, pode-se preparar uma suspensão de conídios na concentração de 10^6 células mL⁻¹ que é plaqueada em meio de cultivo BDA em placas de Petri e incubada por 16 a 20 horas a 25 °C e fotoperíodo de 12 horas. Após esse período, é feita a contagem daqueles conídios que germinaram e não germinaram,

contando pelo menos 200 conídios por placa. O resultado da viabilidade é dado em porcentagem de conídios germinados em relação ao total de conídios contados. No caso do método da contagem de UFC, também adotada para produtos à base de células bacterianas, a viabilidade é dada em função da contagem de colônias formadas em placa de cultivo.

Atividade biológica

A eficácia é tida como o parâmetro mais relacionado à performance em campo (Jenkins; Grzywacz, 2003). Quando o produto é registrado para uso em conformidade com a estratégia inundativa de controle biológico, é relevante que todos os lotes produzidos sejam avaliados. Uma das razões é que os propágulos infectivos dos fungos podem ter sua virulência atenuada após inúmeras passagens por meios de cultura. O problema é que a eficácia é medida a campo, o que inviabiliza sua adoção pelos fabricantes de biopesticidas. A alternativa tem sido a avaliação da virulência (grau de patogenicidade) em laboratório, que pode ser estimada, por exemplo, por meio de bioensaios padronizados com a praga-alvo. Os níveis de mortalidade mínimos devem ser definidos caso a caso. Na Europa, por exemplo, existem empresas que conduzem bioensaios com todos os lotes produzidos sobre o hospedeiro alvo em condições controladas. Entretanto, em muitos casos, a realização de bioensaios rotineiros com produtos à base de fungos pode ser técnica ou logisticamente inviável. Uma alternativa aplicável para os produtos constituídos exclusivamente ou majoritariamente por conídios aéreos seria a estimativa do vigor. Nesses produtos, é desejável que o número de conídios aéreos vigorosos não seja inferior a 80% do total de propágulos viáveis ou UFC declarados nos rótulos (Faria et al., 2022a). Conforme frisado anteriormente, medidas como “conídios viáveis” ou “UFC” em produtos destinados à estratégia inundativa de controle biológico são pouco informativas.

A atividade biológica pode ser determinada por bioensaios, realizados em laboratório ou em casa de vegetação, com os produtos formulados. Geralmente os bioensaios são feitos com cada lote de produção e os resultados obtidos são comparados com resultados padrões com efeitos já conhecidos em função da concentração do produto aplicado. Esse processo objetiva garantir a eficácia dos diferentes lotes de produtos que serão comercializados ou aplicados diretamente no campo.

Para determinação da ação inseticida ou nematicida de microrganismos são feitos ensaios de dose-resposta, visando determinar a concentração letal média (CL_{50}) e o tempo letal médio (TL_{50}) das pragas alvo. A concentração ou dose letal média é a concentração (CL_{50}) ou número de partículas infectivas (DL_{50}) requerida para matar 50% da população de insetos testada. Da mesma forma, o tempo letal médio (TL_{50}) é o período necessário para causar a mortalidade de 50% dos indivíduos em estudo.

O potencial letal dos baculovírus é avaliado por bioensaios, com insetos alvos, cuja mortalidade é um indicador da eficácia do produto (Grzywacz; Moore, 2017; Quiroga-Cubides et al., 2021). Os principais métodos de bioensaio para verificar a atividade dos baculovírus consistem na deposição de corpos de oclusão na superfície do alimento (Moore, 2002), incorporação em dietas artificiais (Morales; Moscardi, 1993) e ingestão de microgotas (Hughes et al., 1986; Hunter-Fujita et al., 1998).

No caso de fungos micopatogênicos e bactérias com ação antagonista a fitopatógenos, são feitos ensaios com plantas inoculadas com os fitopatógenos e com os agentes de controle. Quando o produto

é destinado à aplicação foliar, são feitos ensaios de pulverização e as avaliações realizadas em tempos definidos visando determinar a eficácia de controle das doenças pelos agentes de biocontrole.

Vida de prateleira em temperatura representativa

A vida de prateleira é o intervalo de tempo durante o qual o produto retém as suas especificações, desde que armazenado na embalagem original e de acordo com as condições estabelecidas pelo fabricante. Essas condições referem-se especialmente à temperatura de armazenamento, embora no caso de embalagens não herméticas a umidade relativa tem um significativo efeito sobre a vida útil do produto. No caso dos produtos à base de fungos, a vida de prateleira pode ser entendida como o tempo para que a concentração inicial de ingrediente ativo seja reduzida em 20% quando armazenado num dado regime de temperatura e umidade relativa (Faria et al., 2022b). Quedas superiores a 20% poderiam colocar em risco a eficácia do produto quando utilizado pelo usuário final.

Estudo realizado pela Embrapa demonstrou que temperaturas representativas nos depósitos de agrotóxicos do Brasil variam de 21,7 °C a 28,0 °C, dependendo da região geográfica (Faria et al., 2022b). Conseqüentemente, é recomendável que 30 °C seja a temperatura utilizada nos ensaios para determinação da vida de prateleira dos biopesticidas a serem comercializados nacionalmente e sem a indicação de armazenamento com refrigeração no rótulo. No caso de embalagens não herméticas, os referidos ensaios deverão ser conduzidos com 75% de UR. Sob essas condições, os ensaios para determinação da vida de prateleira são de curta duração, não havendo a necessidade de adoção de testes acelerados (*Accelerated Shelf-Life Testing* - ASLT), que são amplamente utilizados pelas indústrias farmacêutica e alimentícia para produtos com vida de prateleira superiores a 12 meses.

Características físico-químicas associadas ao produto

Algumas exigências quanto às características de bioprodutos são definidas por meio de especificações de referência. Embora tenham surgido para atendimento de demanda relacionada à agricultura orgânica, uma vez que um bioproduto esteja registrado, pode ser utilizado por qualquer agricultor, independentemente do tipo de sistema de produção que adota. Especificação de referência são especificações e garantias mínimas que os produtos fitossanitários com uso aprovado para agricultura orgânica deverão seguir para obtenção de registro. Nas especificações de referência constam informações que vão nortear o controle de qualidade desses produtos, como a concentração do microrganismo, outros ingredientes que podem compor o produto e a sua função, o tipo de formulação e a indicação de uso. A partir da publicação da especificação de referência de determinado organismo, todas as empresas que tiverem interesse em registrar produto à base do mesmo organismo pode/ deve seguir o disposto na referida especificação. Mas, para a submissão de registro com base nessa especificação de referência devem ser apresentados ainda: a caracterização físico-química do produto formulado, constando pH, solubilidade, miscibilidade e densidade; o certificado de análise com quantificação do agente microbiológico de controle em UFC; a certificado de classificação taxonômica obtida junto à instituição de ensino ou pesquisa, comprovando a identidade do agente microbiológico de controle e informando o método utilizado; a identificação da coleção de depósito do agente microbiológico de controle e o teste de estabilidade de prateleira,

que comprove a validade do produto formulado. Portanto, o estabelecimento de uma especificação de referência precede o pleito de registro de um produto fitossanitário com uso aprovado para a agricultura orgânica junto ao Mapa (Ministério, 2021).

A avaliação de parâmetros físico-químicas em preparações ou formulações líquidas é menos comum, mas poderiam ser mencionados parâmetros como a estabilidade das suspensões e o pH. A avaliação do teor de água nas formulações sólidas é bastante utilizada, uma vez que, em excesso, pode levar à proliferação de contaminantes e reduzir drasticamente a vida de prateleira. Muitas biofábricas estrangeiras adotam padrões rigorosos, como teor de água $\leq 5\%$ (Jenkins et al., 1998). A avaliação do tamanho de partículas para formulações sólidas tem sido também adotada (Jenkins et al., 1998).

A concentração de propágulos do fungo ou células bacterianas, bem como dos corpos de oclusão de baculovírus, consta na bula dos produtos formulados registrados. As unidades de medida utilizadas para indicar a concentração destes ingredientes ativos não são padronizadas. Há produtos registrados considerando a concentração de esporos e/ou esporos viáveis, no caso de fungos e unidades formadoras de colônia tanto para fungos quanto para bactérias. Além disso, os métodos de análise de conformidade e controle de qualidade de produtos biológicos não são padronizados para todos os antagonistas, o que dificulta a análise adequada da qualidade dos produtos, a comparação de resultados, a realização de testes e a emissão de laudos no processo de registro (Teixeira et al., 2010).

Considerações finais

O controle de qualidade de bioinsumos à base de microrganismos destinados ao controle de pragas da soja, detalhado acima, é um conjunto de procedimentos de ações preventivas e corretivas implementados em todas as fases do desenvolvimento do bioinsumo. Os procedimentos implementados durante o processo de produção são fundamentais para monitoramento da qualidade de cada etapa. Além da identidade do microrganismo, os parâmetros de qualidade mais importantes do produto comercial já acabado são a concentração, a pureza, a viabilidade e/ou vigor e a atividade (eficiência) biológica. O monitoramento desses parâmetros nos lotes de produção e acompanhamento durante o armazenamento são fundamentais para assegurar a qualidade do produto. O controle de qualidade é indispensável em qualquer unidade de produção para garantir a reprodutibilidade do processo, a padronização do produto. Não menos importante é a redução de contaminantes a níveis aceitáveis para maior segurança ao ambiente e ao ser humano. A principal finalidade do controle de qualidade é garantir a eficácia em campo e a satisfação do consumidor.

A implantação de um criterioso programa de controle de qualidade para produtos à base de microrganismos aplicados ao controle de pragas agropecuárias é uma camada de proteção adicional, tanto para os fabricantes quanto para os agricultores e pecuaristas brasileiros. Os parâmetros de controle de qualidade anteriormente mencionados contribuem para o alcance desse objetivo, desde que as especificações do produto sejam satisfatórias. O controle de qualidade de um produto registrado com baixa concentração de propágulos, por exemplo, não tem o poder mágico de transformá-lo num produto melhor quando aplicado em lavouras.

Todos os lotes comerciais deverão ser analisados quanto à concentração de ingrediente ativo e pureza. As avaliações relacionadas à agressividade ou virulência dos propágulos (via bioensaios ou determinação da concentração de propágulos vigorosos), assim como a avaliação de características físico-químicas, embora não sejam obrigatórias, são recomendáveis. Os demais parâmetros, vida de prateleira e identidade do entomopatógeno, são determinados antes mesmo do processo de registro, mas deverão ser reavaliados sempre que necessário. O primeiro deverá ser repetido sempre que houver alguma alteração no produto (mudança na embalagem ou no teor de água, por exemplo), enquanto o segundo deverá ser realizado periodicamente, visando confirmar que não houve nenhuma troca acidental do princípio ativo na biofábrica. Por outro lado, os parâmetros para o controle de qualidade das preparações obtidas on-farm não foram ainda estabelecidos, mas certamente, a identidade do agente microbiano e a pureza são pontos relevantes e imprescindíveis.

Referências

- ASERSE, A. A.; RÄSÄNEN, L. A.; ASEFFA, F.; HAILEMARIAM, A.; LINDSTRÖM, K. Phylogenetically diverse groups of *Bradyrhizobium* isolated from nodules of *Crotalaria* spp., *Indigofera* spp., *Erythrina brucei* and *Glycine max* growing in Ethiopia. **Molecular Phylogenetic and Evolution**, v. 65, n. 2, p. 595-609, 2012.
- AZEVEDO, H.; LOPES, F. M.; SILLA, P. R.; HUNGRIA, M. A database for the taxonomic and phylogenetic identification of the genus *Bradyrhizobium* using multilocus sequence analysis. **BMC Genomics**, v. 16, Suppl 5, p. S10, 2015.
- BARON, N. C.; POLLO A. D.; RIGOBELLO, E. C. *Purpureocillium lilacinum* and *Metarhizium marquandii* as plant growth-promoting fungi. **PeerJ**, v. 5, p. 1-25, 2020.
- BARRERA, G.; MURCIA, J.; CERÓN, J.; CUARTAS, P.; GUZMÁN, C.; VILLAMIZAR, L. PCR en tiempo real: una metodología útil para la detección y cuantificación de granulovirus. **Revista Colombiana de Biotecnología**, v. 18, n. 2, p. 24-31, 2016.
- BAVYKIN, S. G.; LYSOV, Y. P.; ZAKHARIEV, V. KELLY, J. J.; JACKMAN, J.; STAHL, D. A.; CHERNI, A. Use of 16S rRNA, 23S rRNA, and gyrB gene sequence analysis to determine phylogenetic relationships of *Bacillus cereus* group microorganisms. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, p. 3711-3730, 2004.
- BELL R. A.; OWENS C. D.; SHAPIRO M.; TARDIF, J. R. Mass rearing and virus production: development of mass rearing technology. In: DOANE, C. C.; MCMANUS, M. L. (Eds.). **The gypsy moth: research toward integrated pest management**. USDA Forest Service Technical Bulletin, 1584, 1981. p. 599-633.
- BISCHOFF, J. F.; REHNER, S. A.; HUMBER, R. A. A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. **Mycologia**, v. 101, n. 4, p. 512-530, 2009.
- BOTELHO, A. B. R. Z.; ALVES-PEREIRA, A.; COLONHEZ R. P.; ZUCCHI, M. I.; DELALIBERA I. *Metarhizium* species in soil from Brazilian biomes: a study of diversity, distribution, and association with natural and agricultural environments. **Fungal Ecology**, v. 41, p. 289-300, 2019.
- BUSTAMANTE, D. E.; OLIVA, M.; LEIVA, S.; MENDOZA, J. E.; BOBADILLA, L.; ANGULO, G.; CALDERÓN, M. S. Phylogeny and species delimitations in the entomopathogenic genus *Beauveria* (Hypocreales, Ascomycota), including the description of *B. peruviansis* sp. nov. **MycologyKeys**, v. 58, p. 47-68, 2019.
- CASTRO, M. E. B.; MORAIS RIBEIRO, B.; CRAVEIRO, S. R.; INGLIS, P. W.; VALICENTE, F. H. Controle de artrópodes-praga com vírus entomopatogênicos. In: FONTES, E. M. G.; VALADARES-INGLIS, M. C. (Eds.). **Controle biológico de pragas da agricultura**. Brasília: Embrapa, 2020, p. 237-273.
- CASTRO, T.; EILENBERG, J.; DELALIBERA, I. Exploring virulence of new and less studied species of *Metarhizium* spp. from Brazil for two-spotted spider mite control. **Experimental and Applied Acarology**, v. 74, p. 139-146, 2018.
- CHAVERRI, P.; CASTLEBURY, L. A.; SAMUELS, G. J.; GEISER, D. M. Multilocus phylogenetic structure within the *Trichoderma harzianum*/*Hypocrea lixii* complex. **Molecular Phylogenetic and Evolution**, v. 27, n. 2, p. 302-13, 2002.
- COSTA, N. R.; CASTRO, M. E. B. de; SIHLER, W.; PEGORARO, R. A.; SOUZA, M. L. de. **Análise da estabilidade genética do *Erinnyis ello granulovirus* aplicado em Santa Catarina como bioinseticida no período de 1986 a 2000**. Brasília: Embrapa, 2005. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 110).

- COUTINHO, R. R. *Pochonia chlamydsporia*: controle de *Meloidogyne javanica* em soja, associação com culturas de cobertura e interação com bactérias fixadoras de nitrogênio e com o pH do solo. 2018. 91 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa. Viçosa.
- D'ALESSANDRO, C. P.; JONES, L. R.; HUMBER, R. A.; LASTRA, C. C. L.; SOSA-GÓMEZ, D. R. Characterization and phylogeny of *Isaria* spp. strains (Ascomycota: Hypocreales) using ITS1-5.8S-ITS2 and elongation factor 1-alpha sequences. *Journal of Basic Microbiology*, v. 54, p. S21-S31, 2013.
- DOU, K.; LU, Z.; WU, Q.; NI, M.; YU, C.; WANG, M.; LI, Y.; WANG, X.; XIE, H.; CHEN, J.; ZHANG C. MIST: A multilocus identification system for *Trichoderma*. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 86, n. 18, e01532-20, 2020.
- DRUZHININA, I.; KUBICEK, C. P. Species concepts and biodiversity in *Trichoderma* and *Hypocrea*: from aggregate species to species clusters. *Journal of Zhejiang University Science B*, v. 6, n.2, p. 100-112, 2005.
- DUNLAP, C. A. Taxonomy of registered *Bacillus* spp. strains used as plant pathogen antagonists. *Biological Control*, v. 134, p. 82-86, 2019.
- EBERLE, K. E.; WENNMANN, J. T.; KLEESPIES, R. G.; JEHL, J. A. Basic techniques in insect virology. 2nd ed. In: LACEY A. L. (Ed.). **Manual of Techniques in Invertebrate Pathology**. Oxford: Elsevier, 2012. p. 15-74.
- EILENBERG, J.; HAJEK, A.; LOMER, C. Suggestions for unifying the terminology in biological control. *Biocontrol*, v. 46, p. 387-400, 2001.
- FARIA, M.; LOPES, R. B.; SOUZA, D. A.; WRAIGHT, S. P. Conidial vigor vs. viability as predictors of virulence of entomopathogenic fungi. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 125, p. 68-72. 2015.
- FARIA, M.; MASCARIN, G. M.; SOUZA, D. A.; LOPES, R. B. **Controle de qualidade de produtos comerciais à base de fungos para o manejo de invertebrados** (insetos, ácaros, nematoides). Brasília: Embrapa, 2022a. 48 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos, 377).
- FARIA, M.; PALHARES, L. A. M.; SOUZA, D. A.; LOPES, R. B. What would be representative temperatures for shelf-life studies with biopesticides in tropical countries? Estimates through long-term storage of biocontrol fungi and calculation of mean kinetic temperatures. *BioControl*, 2022b. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10526-021-10126-2>
- FARIA, M. R.; WRAIGHT S. P. Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biological Control*, v. 43, p. 237-256, 2007.
- FERNÁNDEZ-BRAVO, M.; GSCHWEND, F.; MAYERHOFER, J.; HUG, A.; WIDMER, F.; ENKERLI, J. Land-use type drives soil population structures of the entomopathogenic fungal genus *Metarhizium*. *Microorganisms*, v. 9, p. 1380, 2021.
- FERRAZ HELENE, L. C.; O'HARA, G.; HUNGRIA, M. Characterization of *Bradyrhizobium* strains indigenous to Western Australia and South Africa indicates remarkable genetic diversity and reveals putative new species. *Systematic Applied Microbiology*, v. 43, n. 2, 126053, 2020.
- FISHER, T. W.; GARCZYNSKI, S. F. Isolation, culture, preservation, and identification of entomopathogenic bacteria of the Bacilli. In: LACEY, L. A. (Ed.). **Manual of techniques in invertebrate pathology**. 2nd ed. San Diego, CA: Academic Press, 2012. p. 75-99.
- GARAVAGLIA, M. J.; MIELE, S. A. B.; ISERTE, J. A.; BELAICH, M. N.; GHIRINGHELLI, P. D. The ac53, ac78, ac101, and ac103 genes are newly discovered core genes in the family Baculoviridae. *Journal of Virology*, v. 86, p. 12069-12079, 2012.
- GLARE, T. R.; SCHOLTE OP REIMER, Y.; CUMMINGS N.; RIVAS-FRANCO, F.; NELSON, T. L.; ZIMMERMANN, G. Diversity of the insect pathogenic fungi in the genus *Metarhizium* in New Zealand. *New Zealand Journal of Botany*, v. 59, n. 4, p. 440-456, 2021.
- GOETTEL M. S.; INGLIS, G. D. Fungi: hyphomycetes. In: LACEY, L. A. (Ed.). **Manual of techniques in insect pathology**. New York: Academic Press, 1997. p. 213-249.
- GRZYWACZ, D. Basic and applied research: Baculovirus. In: LACEY, L. A. (Ed.). **Microbial control of insect and mite pests**. From theory to practice. Academic Press, London, 2017, p. 27-36.
- GRZYWACZ, D.; MOORE, S. Production, formulation, and bioassay of baculoviruses for pest control. In: LACEY, L.A. (Ed.). **Microbial control of insect and mite pests**: From theory to practice. Amsterdam: Elsevier, 2017. p. 109-124.
- HIRSCH, P.R.; MAUCLINE, T. H.; MENDUM T. A.; KERRY B. R. Detection of the nematophagous fungus *Verticillium chlamydsporium* in nematode-infested plant roots using PCR. *Mycological Research*, v. 104, p. 435-439, 2000.
- HUBÁLEK Z. Protectants used in the cryopreservation of microorganisms. *Cryobiology*, v. 46, p. 205-229, 2003.
- HUMBER, R. A. Fungi: Preservation of cultures. In: Lacey L. (Ed.). **Manual of techniques in insect pathology**. New York: Academic Press 1997, p. 269-279.
- HUGHES, P. R.; VAN BEEK, N. A. M.; WOOD H. A. Modified droplet feeding method for rapid assay of *Bacillus thuringiensis* and Baculoviruses in noctuid larvae. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 48, p. 187-192, 1986.
- HUNTER-FUJITA, F. R.; ENTWISTLE, P. F.; EVANS H. F.; CROOK, N. E. **Insect viruses and pest management**. Chichester, UK: Wiley, 1998. p. 632.

- IWANICKI, N. S. A.; PEREIRA, A. A.; BOTELHO, A. B. R. Z.; REZENDE, J. M.; MORAL, R. A.; ZUCCHI, M. I.; DELALIBERA I. Monitoring of the field application of *Metarhizium anisopliae* in Brazil revealed high molecular diversity of *Metarhizium* spp. in insects, soil and sugarcane roots. **Scientific Report**, v. 9, p. 4443, 2019.
- JÄÄSKELÄINEN, E. **Assessment and control of *Bacillus cereus* emetic toxin in food**. 2008. 78 f. Tese (Doutorado em Microbiologia) - Universidade de Helsinki, Helsinki.
- JEHLE, J. A.; BLISSARD, G. W.; BONNING, B. C.; CORY, J. S.; HERNIOU, E. A.; ROHRMANN, G. F.; THEILMANN, D. A.; THIEM, S. M.; VLAK, J. M. On the classification and nomenclature of baculoviruses: A proposal for revision. **Archives of Virology**, v. 151, p. 1257-1266, 2006.
- JENKINS, N. E.; GRZYWACZ, D. Quality control of fungal and viral biocontrol agents: assurance of product performance. **Biocontrol Science and Technology**, v. 10, p. 753-777, 2000.
- JENKINS, N. E.; GRZYWACZ, D. Towards the standardisation of quality control of fungal and viral biocontrol agents. In: VAN LENTEREN, J. C. (Ed.). **Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures**. Wallingford: CAB International, 2003. p. 247-263.
- JENKINS, N. E.; HEVIEFO, G.; LANGEWALD, J.; CHERRY, A. J.; LOMER, C. J. Development of mass production technology for aerial conidia for use as mycopesticides. **Biocontrol News and Information**, v. 19, p. 21N-31N, 1998.
- KEPLER, R. M.; LUANGSA-ARD, J. J.; HYWEL-JONES, N. L.; QUANDT, C. A.; SUNG, G.-H.; REHNER, S. A.; AIME, M. C.; HENKEL, T. W.; SANJUAN, T.; ZARE, R.; CHEN, M.; LI, Z.; ROSSMAN, A. Y.; SPATAFORA, J. W.; SHRESTHA, B. A phylogenetically-based nomenclature for Cordycipitaceae (Hypocreales). **IMA Fungus**, v. 8, p. 335-353, 2017.
- KHONSANIT A.; LUANGSA-ARD, J. J.; THANAKITPIPATTANA, D.; NOISRIPOOM, W.; CHAITIKA, T.; KOBMOO, N. Cryptic diversity of the genus *Beauveria* with a new species from Thailand. **Mycological Progress**, v. 19, p. 291-315, 2020.
- KRELL, P.J. Passage effect of virus infection in insect cells. **Cytotechnology**, v. 20, p. 125-137, 1996.
- LANGE, M.; WANG, H.; ZHIHONG, H.; JEHL, J. A. Towards a molecular identification and classification system of lepidopteran-specific baculoviruses. **Virology**, v. 325, n. 1, p. 36-47, 2004.
- LOPES, R. B.; SOUZA, D. A.; ROCHA, L. F. N.; MONTALVA, C.; LUZ C.; HUMBER, R. A.; FARIA, M. *Metarhizium alvesii* sp. nov.: A new member of the *Metarhizium anisopliae* species complex. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 151, p. 165-168, 2017.
- LÓPEZ-QUINTERO, C. A.; ATANASOVA, L.; FRANCO-MOLANO, A. E.; GAMS, W.; KOMON-ZELAZOWSKA, M.; THEELEN, B.; MÜLLER, W. H.; BOEKHOUT, T.; DRUZHININA, I. DNA barcoding survey of *Trichoderma* diversity in soil and litter of the Colombian lowland Amazonian rainforest reveals *Trichoderma strigosellum* sp. nov. and other species. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 104, p. 657-674, 2013.
- LOUREIRO, E. de S.; DIAS NETO, J. A.; PESSOA, L. G. A.; ADÃO, D. V.; DIAS, P. M.; PEREIRA FILHO, A. A.; MATEUS, J. A. de F. Management of *Pratylenchus brachyurus* with *Trichoderma harzianum* and *Purpureocillium lilacinum* in soybean. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. e124973828, 2020.
- LUANGSA-ARD, J.; HOUBRAKEN, J.; VAN DOORN, T.; HONG, S.-B.; BORMAN, A. M.; HYWEL-JONES, N. L.; SAMSON, R. A. *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. **FEMS Microbiol Letters**, v. 321, p. 141-149, 2011.
- LUZ, C.; ROCHA, L. F. N.; MONTALVA, C.; SOUZA, D. A.; BOTELHO A. B. R. Z.; LOPES, R. B.; FARIA, M.; DELALIBERA JR, I. *Metarhizium humberti* sp. nov. (Hypocreales: Clavicipitaceae), a new member of the PARB clade in the *Metarhizium anisopliae* complex from Latin America. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 166, p. 107216, 2019.
- MAPA. **Agrofit: consulta aberta**. 2022. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agro_fit_cons>. Acesso em: 08 mar. 2022.
- MAYERHOFER, J.; ENKERLI, J.; ZELGER, R.; STRASSER, H. Biological control of the European cockchafer: persistence of *Beauveria brongniartii* after long-term applications in the Euroregion Tyrol. **BioControl**, v. 60, p. 617-629, 2015.
- MEDINA-CANALES, M. G.; RODRIGUEZ -TOVAR, A. V. MANZANILLA-LOPEZ, R. H.; ZUÑIGA, G. Identification and molecular characterization of new Mexican isolates of *Pochonia chlamydosporia* for the management of *Meloidogyne* spp. **Biocontrol Science and Technology**, v. 24, n. 1, p. 1-21, 2014.
- MEYER, M. C.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. (Eds.). **Trichoderma: uso na agricultura**. Brasília: Embrapa, 2019. 538 p.
- MIELE, S. A. B.; GARAVAGLIA, M. J.; BELAICH, M. N.; GHIRINGHELLI, P. D. Baculovirus: molecular insights on their diversity and conservation. **International Journal of Evolutionary Biology**, 2011, p. 1-15, 2011.
- MINISTÉRIO da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa). **Especificações de Referência**. 2021. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/produtos-fitosanitarios/especificacao-de-referencia>>. Acesso em: 18 out. 2021.
- MONNERAT, R. G.; MONTALVÃO, S. C. L.; MARTINS, E. S.; QUEIROZ, P. R.; SILVA, E. Y. Y. da; GARCIA, A. R. M.; CASTRO, M. T. de; ROCHA, G. T.; FERREIRA, A. D. C. de L.; GOMES, A. C. M. M. **Manual de produção e controle de qualidade de produtos biológicos à base de bactérias do gênero *Bacillus* para uso na agricultura**. Brasília: Embrapa, 2020. 46 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos, 369)

- MONGKOLSAMRIT, S.; NOISRIPOOM, W.; THANAKITPIPATANA, D.; WUTIKHUN, T.; SPATAFORA, J. W.; LUNGSA-ARD, J. Disentangling cryptic species with *Isaria*-like morphs in Cordycipitaceae. *Mycologia*, v. 110, p. 230-257, 2018.
- MOORE, S.D. **The development and evaluation of *Cryptophlebia leucotreta granulovirus* (CrLeGV) as a biological control agent for the management of the false codling moth, *Cryptophlebia leucotreta*, on citrus.** 2002. 308 f. PhD Thesis - Rhodes University, Grahamstown, South Africa.
- MORALES, L.; MOSCARDI, F. Comparação entre duas metodologias de bioensaios para vírus entomopatogênicos. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v. 22, p. 535-540, 1993.
- MOSCARDI, F. Assessment of the application of baculoviruses for control of Lepidoptera *Annual Review of Entomology*, v.44, p. 257-89, 1999.
- MOSCARDI, F.; SOUZA, M. L.; CASTRO, M. E. B.; MOSCARDI, M.; SZEWCZYK, B. Baculovirus pesticides: present state and future perspectives. In: AHMAD, I.; AHMAD, F.; PICHEL, P. (Eds.). *Microbes and microbial technology: agricultural and environmental applications*, New York: Springer, 2011. p. 415-445.
- NONAKA, K.; OMURA, S.; MASUMA, R.; KAIFUCHI, S. Three new *Pochonia* taxa (Clavicipitaceae) from soils in Japan. *Mycologia*, v. 105, p. 1202-1218, 2013.
- OECD. **OECD issue paper on microbial contaminant limits for microbial pest control products.** OECD Environment, Health and Safety Publications. Series on Pesticides, No. 65. 2011.
- OLIVEIRA, D. G. P.; PAULI, G.; MASCARIN, G. M.; DELALIBERA, I. A protocol for determination of conidial viability of the fungal entomopathogens *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* from commercial products. *Journal of Microbiological Methods*, v. 119, p. 44-52, 2015.
- O'REILLY, D.R.; MILLER, L.K.; LUCKOW, V. A. **Baculovirus expression vectors: a laboratory manual.** Salt Lake City, UT: W.H. Freeman, 1992. 347 p.
- PERDOMO, H.; CANO, J.; GARCÍA, D.; GENÉ, J.; HERNÁNDEZ M.; GUARRO, J. Polyphasic analysis of *Purpureocillium lilacinum* isolates from different origins and proposal of the new species *Purpureocillium lavendulum*. *Mycologia*, v. 105, n. 1, p. 151-161, 2013.
- QUIROGA-CUBIDES, G. M.; TOLOZA-MORENO, D.; BARRERA, G.; GÓMEZ, J.; RUIZ, J.; GÓMEZ, M. I.; CORTÉS-ROJAS, D. F. Formulation process of a biopesticide based on the *Erinnyis ello* betabaculovirus (ErelGV): unit operations analysis. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, v. 20, n. 2, p. 989-1004, 2021.
- RAVENSBERG, W. J. **A roadmap to the successful development and commercialization of microbial pest control products for control of Arthropods.** Dordrecht: Springer, 2011. 386 p.
- REHNER, S. A.; MINNIS, A. M.; SUNG, G.-H.; LUANGSA-ARD, J. J.; DEVOTTO, L.; HUMBER, R. A. Phylogeny and systematics of the anamorphic, entomopathogenic genus *Beauveria*. *Mycologia*, v. 103, p. 1055-1073, 2011.
- REHNER, S. A.; POSADA, F.; BUCKLEY, E. P.; INFANTE, F.; CASTILLO, A.; VEGA, F. E. PHYLOGENETIC origins of African and Neotropical *Beauveria bassiana* s.l. pathogens of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 93, p. 11-21, 2006.
- REINEKE, A.; BISCHOFF-SCHAEFER, M.; RONDOT, Y.; GALIDEVARA, S.; HIRSCH, J.; UMA DEVI, K. Microsatellite markers to monitor a commercialized isolate of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* in different environments: technical validation and first applications. *Biological Control*, v. 70, p. 1-8, 2014.
- REZENDE, J. M.; ZANARDO, A. B. R.; LOPES, M. DA SILVA; DELALIBERA, I.; REHNER, S. A. Phylogenetic diversity of Brazilian *Metarhizium* associated with sugarcane agriculture. *BioControl*, v. 60, p. 495-505, 2015.
- ROONEY, A. P.; PRICE, N. P. J.; EHRHARDT, C.; SEWZEY, J. L.; BANNAN, J. D. Phylogeny and molecular taxonomy of the *Bacillus subtilis* species complex and description of *Bacillus subtilis* subsp. *inaquosorum* subsp. nov. *International Journal of Systematic Evolution and Microbiology*, v. 59, p. 2429-2436, 2009.
- SANCHES, M. M.; SIHLER, W.; SILVA, C. E. P.; GUIMARÃES, G. C.; BENITO, N. P.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; SOUZA, M. L. Characterization of a *Chrysodeixis includens* nucleopolyhedrovirus isolate from Brazilian Cerrado and assessment of its co-infection with *Anticarsia gemmatalis* multiple nucleopolyhedrovirus. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 62, e19180688, 2019. DOI: 10.1590/1678-4324-2019180688
- SINGH, P.; MOORE R. R. **Handbook of insect rearing.** v. 1. Amsterdam: Elsevier, 1985. 496 p.
- SOSA-GÓMEZ, D.R. Microbial Control of Soybean Pest Insects and Mites. In: LACEY, L. (Ed.). **Microbial Control of Insect and Mite Pests. From Theory to Practice.** Academic Press Elsevier. 2017. p. 199-208.
- SOSA-GÓMEZ, D.R.; MORGADO, F.S.; CORRÊA, R.F.T.; SILVA, L. A.; ARDISSON-ARAÚJO, D. M. P.; RODRIGUES, B.M. P.; OLIVEIRA, E.E.; AGUIAR, R. W.S. RIBEIRO, B. M. Entomopathogenic viruses in the Neotropics: Current Status and Recently Discovered Species. *Neotropical Entomology*, 49, 315-331, 2020.

- SUDHAKAR, S.; VARATHARAJAN, R.; MATHAVAN, S. Simple method to purify polyhedral inclusion bodies from *Nosema* (Microspora: Nosematida) contamination. **Entomon**, v. 22, n. 2, p. 89-93, 1997.
- SUNG, G.-H.; SUNG, J.-M.; HYWEL-JONES, N. L.; SPATAFORA, J. W. A multi-gene phylogeny of Clavicipitaceae (Ascomycota, Fungi): identification of localized incongruence using a combinational bootstrap approach. **Molecular Phylogenetic and Evolution**, v. 44, n. 3, p. 1204-23, 2007.
- TEIXEIRA, H.; BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B.; PAULA JÚNIOR, T. J.; PINTO, Z. V.; LEHNER, M. S.; FREITAS, M. M. Q.; REZENDE, L.C. Conformidade e qualidade de produtos biológicos para o controle de doenças de plantas. In: VENZON, M.; PAULA JÚNIOR, T. J.; PALLINI, A. (Eds.). **Controle alternativo de pragas e doenças na agricultura orgânica**. Viçosa: Epamig, 2010. p. 101-112.
- TIWARI, S.; PRASAD, V.; LATA, C. *Bacillus*: plant growth promoting bacteria for sustainable agriculture and environment. In: SHANKAR, S. J.; SINGH, D. P. (Eds.). **New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering**. Lucknow: Elsevier, 2019. p 43-55.
- WOLKERS, W. F.; WALKER, J. M. **Cryopreservation and freeze-drying protocols**. New York, NY, USA: Springer, 2021. 742 p.
- WU, S.; TOEWS, M. D.; CASTRILLO, L. A.; BARMAN, A. K.; COTTRELL, T. E.; SHAPIRO-ILAN, D. I. Identification and virulence of *Cordyceps javanica* strain wf GA17 isolated from a natural fungal population in sweetpotato whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae). **Environmental Entomology**, v. 50, n. 5, 1127-1136, 2021.
- ZASADA, A. A. Detection and Identification of *Bacillus anthracis*: from conventional to molecular microbiology methods. **Microorganisms**, v. 8, n. 1, p. 125. 2020.

Inovações biotecnológicas para a soja

Moises João Zotti

Deise Cagliari

Patrick Marques Dourado

Renato Jun Horikoshi

Introdução

Para este capítulo o objetivo foi trazer abordagens voltadas às inovações biotecnológicas, em estudos ou finalizadas, mas com potencial para desenvolvimento de produtos biotecnológicos. Neste sentido, foi selecionado três áreas consolidadas ou em fase avançada de estudo para geração de novos produtos para a cultura da soja no âmbito de plantas transgênicas, CRISPR/Cas9 e RNA de interferência (RNAi).

Em se tratando de proteção de cultivos, produtos advindos da biotecnologia e usados como bioinsumos trazem vantagens pela redução do uso de agrotóxicos de amplo espectro (ex. organofosforados) e por consequência preservação dos inimigos naturais e menor impacto ambiental, maior segurança ao aplicador por se tratar de produtos de baixa toxicidade. Por outro lado, são produtos com menor prazo de validade e mais suscetíveis a degradação ambiental como é o caso das dsRNAs usadas para controle através de RNA de interferência como será abordado neste capítulo.

Nos dias atuais o desenvolvimento de produtos biotecnológicos deixou de ser apenas uma especulação para ser uma realidade que faz parte do ferramental usado no controle de insetos-praga e patógenos. Importante ressaltar que a utilização de ferramentas de biologia molecular e, por consequência, o desenvolvimento de estratégias biotecnológicas, depende da existência do conhecimento prévio do genoma e/ou transcriptoma das espécies em estudo. Ainda, o uso de plantas transgênicas como as plantas que recebem genes da bactéria *Bacillus thuringiensis*, plantas Bt, têm sido usadas na agricultura por mais de uma década, sendo que em 2008, os agricultores brasileiros começaram a cultivar o milho Bt, causando uma revolução na produção comercial. Pela inserção de genes o milho passa a expressar uma ou mais proteínas inseticidas tornando a planta resistente a insetos como por exemplo a lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*), uma das principais pragas da cultura. Outras tecnologias como RNA de interferência (RNAi) estão em fase avançada de desenvolvimento para controle de vários insetos-pragas, patógenos e plantas daninhas (Zotti et al., 2018), sendo liberadas para plantio comercial em alguns países como Estados Unidos e Canadá desde 2017, como o milho SmartStax PRO contendo genes Cry e dsRNAs. A tecnologia CRISPR/Cas9 possibilita o desenvolvimento de estratégia de manejo por

meio de alterações nas sequências de DNA de organismos alvo de maneira precisa e rápida. Mesmo que esta estratégia esteja em uma fase menos avançada que RNAi e plantas transgênicas, apresenta grande potencial pela simplicidade e precisão do método. Todos os assuntos acima descritos serão abordados com mais profundidade nas três seções seguintes.

Plantas transgênicas no manejo de insetos-praga

A crescente população mundial e conseqüentemente o consumo, requer uma demanda cada vez maior de alimentos e fibras. A competição por terras, água e demais recursos naturais limitam a expansão da agricultura, portanto, o aumento de produtividade é uma demanda cada vez maior no mundo. Neste cenário, plantas transgênicas possuem o potencial de contribuir significativamente para uma agricultura sustentável e promover segurança alimentar (Godfray et al., 2010).

A partir do uso de técnicas de engenharia genética, foram desenvolvidas plantas geneticamente modificadas que expressam proteínas da bactéria *Bacillus thuringiensis*, também conhecidas como plantas *Bt*. A adoção de plantas *Bt* trouxe benefícios para o manejo integrado de pragas em sistemas agrícolas. Além da proteção das plantas contra o ataque de pragas, o uso de plantas *Bt* reduz a aplicação de inseticidas, preserva inimigos naturais, aumenta a rentabilidade para os agricultores e pode causar a supressão regional de pragas (Hutchison et al., 2010; Edgerton et al., 2012; Lu et al., 2012; Dively et al., 2018). No Brasil, o primeiro evento de *Bt* aprovado foi o algodão Bollgard, que expressa a proteína Cry1Ac, em 2005 (CTNBio, 2021). Posteriormente, em 2007, ocorreu a aprovação comercial do primeiro milho resistente a insetos, YieldGard que expressa a proteína Cry1Ab; em 2010 foi aprovado o primeiro evento de soja *Bt* (Intacta RR2 PRO que expressa a proteína Cry1Ac); em 2017 o primeiro evento de cana-de-açúcar *Bt* foi aprovado (CTC20BT que expressa a proteína Cry1Ab) (CTNBIO, 2021). Atualmente, existem diversas tecnologias de plantas *Bt* aprovadas comercialmente no Brasil, que combinam proteínas para o controle de insetos, tais como Cry1Ac, Cry1Ab, Cry1F, Cry2Ab2, Cry2Ac, Vip3A e Cry3Bb1 (CTNBio). No caso específico da soja, atualmente existem três tecnologias de plantas *Bt* disponíveis comercialmente: A soja Intacta RR2 PRO (Cry1Ac), lançada comercialmente em 2013/14; e as sojas Intacta 2Xtend (Cry1Ac/Cry1A.105/Cry2Ab2) e Conkesta (Cry1Ac/Cry1F) lançadas comercialmente em 2021/22 (CTNBio, 2021).

Entretanto, a resistência de insetos às plantas *Bt* é o maior risco para continuar a usufruir dos benefícios destas tecnologias (Gould, 1998; Tabashnik et al., 2009; Tabashnik et al., 2013). Para que estas tecnologias possam continuar a contribuir para o Manejo Integrado de Pragas (MIP), é necessário que seja feito o uso correto das tecnologias conforme as recomendações de Manejo da Resistência de Insetos (MRI). A resistência é uma característica genética que permite um indivíduo tolerar doses que seriam letais para a maior parte de uma população (Tabashnik, 1994). Estes indivíduos ocorrem normalmente em baixa frequência dentro de uma população no ambiente. A resistência a campo ocorre quando estes indivíduos são selecionados gradativamente, aumentando a sua frequência relativa dentro da população (Tabashnik et al., 2009). O manejo de resistência a inseticidas (MRI) tem por objetivo retardar este processo de aumento da frequência relativa de alelos de resistência, e por conseqüência indivíduos, na população.

A estratégia de refúgio e alta dose é a principal estratégia de MRI utilizada para plantas *Bt* (Tabashnik et al., 2013) (Figura 1).

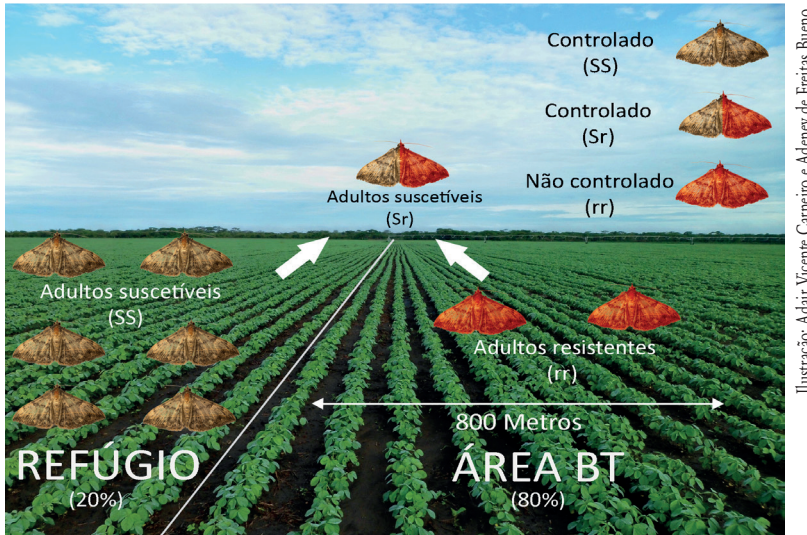


Figura 1. Representação da área de refúgio e sua função na preservação da tecnologia *Bt*.

O refúgio é uma porção da área de cultivo plantada com uma variedade ou híbrido sem a presença de tecnologia *Bt*, que servirá como meio de multiplicação de indivíduos sem que ocorra pressão de seleção. Estes indivíduos suscetíveis, que serão multiplicados em abundância, irão acasalar com os raros indivíduos que sobrevivem das áreas *Bt* (resistentes) e irão gerar descendentes que serão eliminados no momento que se alimentarem de uma planta com expressão de alta dose de proteína *Bt* (Gould, 1998; Tabashnik et al., 2013).

A piramidação, que é a expressão de mais de uma proteína na planta, é outra estratégia de MRI. Esta estratégia se baseia no princípio de ataque múltiplo, ou seja, a planta deve produzir duas ou mais proteínas com alta atividade para a mesma praga, ocasionando a mortalidade redundante do inseto (Carrière et al., 2015). Em outras palavras, quando duas proteínas, ex. proteína A e B, são expressas na mesma planta, quando um indivíduo resistente a proteína A emergir no campo, a proteína B irá eliminar o indivíduo, sendo que a recíproca é verdadeira. Para que uma planta piramidada seja efetiva, cada proteína deve ter um modo de ação específico e causar pelo menos 95% de mortalidade isoladamente (Carrière et al., 2015).

Apesar das recomendações, a implementação de refúgio ainda é um desafio e a resistência é uma realidade na agricultura brasileira. Populações de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), considerada a principal praga de milho, foram selecionadas para a resistência às proteínas Cry1F e Cry1Ab expressas em milho (Farias et al., 2014; Omoto et al., 2016). A baixa adoção de refúgio foi uma das principais causas apontadas para a rápida evolução de resistência (Farias et al., 2014). Em ambientes tropicais, as populações de insetos podem apresentar altas respostas plásticas a mudanças no ambiente, como observado em *S. frugiperda* (Silva-Brandão et al., 2017). Estas rápidas respostas, são parcialmente

responsáveis pela dificuldade de manejo destas pragas no sistema. Os plantios sucessivos e concomitantes de soja, milho e algodão em algumas regiões do Cerrado brasileiro também trazem desafios no manejo de pragas (Fatoretto et al., 2017). A ocorrência de *S. frugiperda* por exemplo não se limita mais somente a cultura do milho, sendo observado um aumento de sua ocorrência na cultura da soja (Horikoshi et al., 2021). A diversidade de hospedeiros de uma praga naturalmente traz desafios para o desenvolvimento de produtos de biotecnologia.

O desafio atualmente é o manejo de pragas dentro do sistema. As principais pragas de tecnologias *Bt* (*S. frugiperda*, *Helicoverpa armigera* e *Chrysodeixis includens*) atacam mais que uma cultura no sistema agrícola. Evidentemente, a resistência a uma tecnologia *Bt* em determinada cultura pode em algum momento afetar a eficácia de uma tecnologia *Bt* em outra cultura, o que é denominado resistência cruzada entre culturas. É o caso da resistência *S. frugiperda* ao milho *Bt*, que está afetando a eficácia das tecnologias de algodão e soja *Bt* (Horikoshi et al., 2016; Machado et al., 2020). Neste cenário, as inovações em biotecnologia são fundamentais para que possamos manejar as pragas de maneira sustentável dentro do sistema de produção.

Para ajudar na proteção das plantas e auxiliar na demanda de produção de alimentos, os avanços em biotecnologia são essenciais. Novas proteínas de *B. thuringiensis* estão sendo desenvolvidas para auxiliar no MIP e MRI, tais como as proteínas Cry1A.2 e Cry1B.2 para proteção contra lepidópteros praga da soja (Chen et al., 2021) e as proteínas Cry1B.868 e Cry1Da_7 para a proteção contra *S. frugiperda* no milho (Wang et al., 2019; Horikoshi et al., 2021). Além do controle das pragas-alvos das tecnologias atuais, outras ordens de pragas também entram na lista de novas proteínas, como é o caso do algodão que expressa a proteína mCry51Aa2 para a proteção contra *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae) (Gowda et al., 2016). Existem também outras bactérias que passaram a ser prospectadas para a busca de novos modos de ação, como *Brevibacillus laterosporus* e *Pseudomonas chlororaphis*, com o objetivo de proteção contra *Diabrotica virgifera virgifera* (Schellenberger et al., 2016; Bowen et al., 2021). Os avanços vão também para a busca de genes oriundos de outros organismos além de bactérias, utilizando-se genes de plantas: *Tectaria macrodonta*, para o controle de *Bemisia tabaci* em algodão (Shukla et al., 2016) e *Adiantum* spp. para o controle de lepidópteros praga em soja e milho (Liu et al., 2019).

Apesar das inovações, é importante ressaltar a necessidade de se seguir as recomendações de uso correto das tecnologias. A preservação de tecnologias *Bt* por meio do plantio de refúgio é de extrema importância para o momento de transição entre as gerações da biotecnologia. Além disso, o MIP não deve ser baseado apenas em um pilar de sustentação, mas na integração das diversas táticas de controle, fortalecidas pelas bases como a taxonomia, biologia, ecologia, monitoramento, níveis de ação e condições ambientais. Entender as bases é uma direção para que, no futuro, possamos manejar as pragas dentro do sistema de produção de uma maneira mais sustentável.

CRISPR/Cas9 no manejo de insetos-praga

Ferramentas de edição de genomas, tais como TALEN (*transcription activator-like effector nucleases*) e ZFNs (*zinc finger nucleases*) são utilizadas por pesquisadores a alguns anos, sendo contudo, ferramentas custosas e extremamente trabalhosas (Gaj et al., 2013; Wang et al., 2013). A revolução nesse campo da

engenharia genética se deu em 2012, quando o grupo liderado pelas pesquisadoras Jennifer A. Doudna e Emmanuelle Charpentier, conseguiu utilizar o sistema CRISPR/Cas9 como uma ferramenta de edição de genomas (Doudna; Charpentier, 2014). O sistema CRISPR/Cas (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/CRISPR associated protein*) é um mecanismo de defesa natural presente em células de organismos procariontes e arqueas (Koonin; Makarova, 2013). A identificação e síntese dos componentes desse sistema, possibilitou a criação de uma ferramenta através da qual é possível realizar alterações nas sequências de DNA de organismos alvo de maneira precisa e rápida.

O sistema CRISPR/Cas9 é formado por uma molécula de aproximadamente 21 nucleotídeos chamada RNA CRISPR - crRNA; um RNA transativador (tracrRNA) e uma endonuclease, a Cas9 (Taning et al., 2017). A combinação das moléculas crRNA:tracrRNA forma o RNA guia (sgRNA), que possui duas funções principais: o crRNA, na extremidade 5', irá determinar a região alvo no DNA, enquanto que o tracrRNA, na extremidade 3', será responsável pela ligação com a Cas9 (Anzalone et al., 2020; Doudna; Charpentier, 2014). O sgRNA irá guiar a enzima Cas9 até a sequência crRNA complementar no genoma do organismo alvo, localizada adjacente a sequência PAM (*Protospacer Adjacent Motif*). O reconhecimento correto da região alvo no DNA requer o pareamento das bases da sequência crRNA e a presença da sequência PAM próximo da sequência-alvo (Gasiunas et al., 2012; Jinek et al., 2012). No caso da enzima Cas9, oriunda de *Streptococcus pyogenes*, a sequência PAM é 5'-NGG-3' (Heler et al., 2015). Quando o sistema encontra a região complementar no DNA alvo, a endonuclease Cas9 cliva as fitas de DNA, gerando uma quebra na sequência de DNA (DSB) (Jinek et al. 2012; Doudna; Charpentier 2014).

Uma vez que a DSB foi gerada, a célula pode reparar o DNA de duas formas distintas: (i) "junção de pontas não homólogas" (NHEJ - *Non-homologous end joining*) ou (ii) reparo dirigido por homologia (HDR - *Homology directed repair*). Quando o reparo ocorre via NHEJ pode resultar em deleções ou inserções conhecidas como "indels" ou gerar substituições de nucleotídeos, levando à criação de uma versão mutante do gene alvo (Sander; Joung, 2014; Sun et al., 2017; Taning et al., 2017). Por outro lado, reparos via HDR necessitam de uma "sequência doadora", levando a um processo de reparo através da inserção de uma nova sequência de nucleotídeos (Sun et al., 2017; Thurtle-Schmidt; Lo, 2018). Além disso, a endonuclease Cas pode sofrer modificações, fazendo com a molécula perca a sua atividade enzimática (dCas), passando a funcionar como um ativador ou repressor da transcrição genética (Gaj et al., 2013).

Desde o surgimento da tecnologia, o sistema CRISPR/Cas9 vem sendo explorado e tem se mostrado uma ferramenta promissora no que diz respeito a introdução e/ou deleção de sequências específicas no DNA de organismos alvo. No estudo dos insetos, até o momento essa ferramenta vem sendo amplamente utilizada em estudos de genética funcional, por permitir, comparado as técnicas de edição genética anteriores, a geração de insetos modificados geneticamente de um modo relativamente mais simples e barato (Taning et al., 2017). Espécies de importância agrícola, como *Leptinotarsa decemlineata* (Gui et al., 2020), *Nilaparvata lugens* (Xue et al., 2018), *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) (Ye et al., 2017), *Euschistus heros* (Cagliari et al., 2020), econômica (Ma et al., 2014; Wei et al., 2014) entre outras, tiveram seu DNA modificado para estudos de genética funcional utilizando essa promissora ferramenta. Esses estudos resultam em informações sobre biologia, comportamento e desenvolvimento de determinada espécie. Tais informações, aliadas as ferramentas de edição de genes, poderão ser utilizadas na

geração de novas linhagens de insetos com mais rapidez e eficiência, comparado aos métodos tradicionais de reprodução (Wang et al., 2013). Usando a ferramenta CRISPR, pesquisadores foram capazes de desenvolver uma população do bicho-da-seda, *Bombyx mori* com um alto grau de resistência ao vírus da poliedrose nuclear (NPV), comparado aos animais selvagens (Chen et al., 2017). São abordagens como essa que contribuirão para a construção de uma sericultura mais moderna, podendo ser espelhadas para outros espécies de insetos de importância econômica, tais como abelhas (*Apis mellifera*) ou ainda espécies de insetos que são considerados inimigos naturais.

Outra abordagem de utilização da ferramenta CRISPR são os chamados *gene-drives* ou drives genéticos. Nessa abordagem, o reparo do DNA é feito via HDR, e devido a metodologia de montagem do molde de reparo, a edição genética acaba por ocorrer nos dois alelos presentes no cromossomo (homozigose para o drive genético) (Drury et al., 2017; Gantz; Bier, 2015), passando assim, a alteração para todos os descendentes. Dependendo da característica do *gene-drive*, ele pode ser classificado em três classes diferentes: (i) erradicação, (ii) supressão e (iii) drives de resgate (Rode et al., 2019). De maneira resumida, drives genéticos de erradicação e supressão são projetados para eliminar ou diminuir o tamanho de uma população de insetos, contando com a introdução de mutações deletérias “fortes” ou “leves”, respectivamente (Rode et al., 2019). Por outro lado, usando drives genéticos de resgate, podemos introduzir mutações benéficas ou remover as deletérias, com o objetivo de salvar uma população em perigo (Esvelt et al., 2014). Modelos de previsão utilizando gene-drives em machos de *Ceratitis capitata*, a mosca-do-mediterrâneo, foram capazes de identificar alterações que poderiam ser aplicadas com sucesso no manejo de populações desse inseto-praga (Karaminejadranjbar et al., 2018)

Usando a estratégia dos drives genéticos no manejo de populações de insetos-praga, indivíduos geneticamente editados (GE) contendo as alterações desejadas são introduzidos na população selvagem, espalhando a característica genética na população natural de uma forma mais rápida em comparação com a herança genética mendeliana simples (Alphey; Bonsall, 2018; Courtier-Orgozo et al., 2017; Esvelt et al., 2014; Rode et al., 2019). As aplicações dessa abordagem no manejo de insetos-pragas são promissoras, como, por exemplo, a reintrodução a suscetibilidade de um determinado composto químico em uma população de insetos resistente no campo (*Spodoptera frugiperda* resistente, por exemplo).

Alterar o genoma de populações inteiras de insetos pode ajudar a controlar doenças e pragas, porém, possíveis consequências negativas da liberação de insetos modificados utilizando essa nova tecnologia (off-target) também são uma possibilidade. Uma das principais preocupações relacionadas ao uso do sistema CRISPR/Cas9 em insetos diz respeito à geração e liberação de insetos editados por CRISPR carregando drives genéticos, os quais podem alterar populações inteiras ou mesmo ecossistemas (Beumer et al., 2013; Champer et al., 2016; Esvelt et al., 2014). Para evitar consequências ecológicas indesejadas, a liberação de insetos modificados via CRISPR deve passar por avaliações rigorosas de risco com relação aos possíveis efeitos não-alvo das alterações (Taning et al., 2017; Xu et al., 2019). Algumas medidas preventivas podem ser tomadas, afim de evitar esse tipo de problema, tais como: modificações precisas do DNA; entendimento do ecossistema como um todo e as consequências das intenções (ou não) entre os organismos, e; previsão e antecipação de possíveis consequências não intencionais da liberação desses organismos na natureza (Taning et al., 2017). Pesquisas em laboratório juntamente com o aprimoramento

das análises de bioinformáticas desempenharão um papel importante no processo de estudo e fornecerão um guia para as futuras análises de risco dos produtos oriundos dessa ferramenta (Naito et al., 2015).

Além disso, devido à característica das moléculas de sgRNA, as avaliações de risco considerando a utilização da tecnologia deverão ser realizadas considerando caso-à-caso (Taning et al., 2017). Como exemplo, tem-se o caso do cogumelo editado pelo CRISPR, que em 2016 escapou à regulamentação nos EUA, ficando fora da legislação de organismos geneticamente modificados (OGMs) por não conter DNA exógeno (Kim; Kim, 2016). Isso indica que, dependendo da edição de DNA feita, plantas editadas utilizando a ferramenta CRISPR podem não estar sob os mesmos regulamentos escritos que as plantas geneticamente modificadas tradicionais (Wang et al., 2019), sendo o mesmo aplicado a insetos editados. A avaliação de risco e a regulamentação de produtos baseados em CRISPR terão um papel importante na liberação dessas tecnologias, assim como a manutenção da eficiência dessa ao longo dos anos, variando em função do “tipo” de edição realizada no organismo e de país para país. Para alcançar soluções eficazes e duráveis para o manejo de pragas no campo, pesquisadores, produtores, indústrias, assim como o governo, desempenham um papel importante no processo (Anderson et al., 2019a; Lamichhane et al., 2016). Somente com a cooperação entre os campos, será possível encontrar novas soluções, implementá-las e destacar a importância dessas abordagens para o desenvolvimento de sistemas de produção sustentável.

RNAi no manejo de insetos-praga

O início da civilização humana pode ser rastreado pela habilidade de cultivar plantas. Esta habilidade humana permitiu que um maior número de pessoas pudesse ser mantido em um mesmo ambiente (vilas, cidades) mas também trouxe diversos desafios na proteção destas plantas, e que humanidade tem enfrentado continuamente. Para garantir a produção de alimentos suficiente, desde os primórdios da agricultura, os agricultores tiveram um histórico de uso de agroquímicos para proteger seus cultivos para uma vasta gama de organismos, incluindo insetos-praga, ácaros, fungos, plantas daninhas, dentre outros.

A era moderna dos agrotóxicos sintéticos teve início por volta de 1930 com insetos, fungos e plantas daninhas, destruindo cada um mais de 13% antes da colheita, e cerca de 10% na pós-colheita (Oerke, 2006), sendo assim, uso destes agrotóxicos sintéticos tornou-se fundamental para a moderna tecnologia de proteção de lavouras. Sem as medidas atuais de proteção de cultivos, uma estimativa coloca as perdas potenciais em 70%, reduzindo o fornecimento global de alimentos em quase 50% (Oerke et al., 1994). Devido ao aumento da resistência (Hollomon, 2012) de plantas daninhas, insetos-praga e fungos a diferentes classes agroquímicos, regras ambientais e o crescimento do mercado estimulou a demanda por métodos de controle de pragas mais seletivos, seguros e econômicos. Ao longo das últimas décadas, os cientistas alocaram uma grande quantidade de energia intelectual na busca de estratégias mais refinadas para reduzir as perdas causadas por insetos, fungos e plantas daninhas, como plantas transgênicas que expressam toxinas de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) (Gatehouse et al., 2011) e, mais recentemente, silenciamento de genes por RNAi (interferência de RNA) (Fire et al., 1991, 1998).

O RNAi é um processo natural presente nas células eucarióticas para a regulação gênica e defesa antiviral. Em uma perspectiva de controle de pragas, o RNAi refere-se ao silenciamento de genes mediado por RNAs de fita dupla (dsRNA) que envolve o bloqueio da expressão de genes alvo pela destruição das

moléculas de mRNA correspondentes, afetando o processo de tradução. Devido ao seu modo de ação dependente da sequência, a tecnologia de RNAi, como referida atualmente pela indústria, tem uma vasta gama de aplicações agrícolas potenciais, incluindo melhoramento de cultivos, proteção de insetos benéficos, manejo de resistência, controle de insetos-praga, patógenos, nematóides e plantas daninhas (Zotti et al., 2018; Dias et al., 2020) (Figura 2).

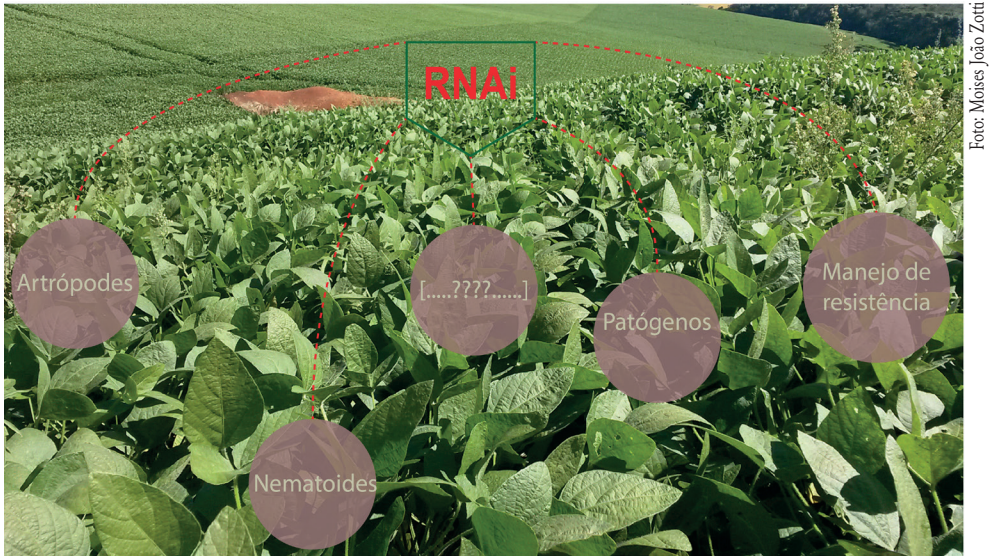


Foto: Moises João Zotti

Figura 2. RNAi e as diversas possíveis aplicações no manejo de insetos-praga, patógenos, nematóides, dentre outros organismos.

Por causa da alta especificidade do silenciamento de genes mediado por dsRNA, em comparação com outras estratégias de controle de insetos-praga, patógenos e plantas daninhas como os agroquímicos. Produtos baseados em RNAi têm o potencial de fornecer novas estratégias com eficiência e seletividade muito além dos resultados usando métodos convencionais como agroquímicos. Os bioprodutos baseados em RNAi são disponibilizados com abordagens transformativas (isto é, RNAi como Protetores Incorporados em Plantas ou PIPs) e não transformadoras / não PIPs (isto é, dsRNA pulverizado) (Cagliari et al., 2019).

As últimas duas décadas de pesquisa demonstram que RNAi é eficiente em alguns insetos, especialmente aqueles que pertencem à ordem dos coleópteros, respondendo de maneira robusta a exposição a dsRNAs longos maiores que 400 pb (Zotti et al., 2018; Dias et al, 2020). Por outro lado, insetos-praga como lepidópteros e hemípteros parecem, em sua grande maioria, recalcitrantes em sua resposta ao RNAi ambiental, sugerindo que existem barreiras biológicas que limitam o uso de RNAi para o manejo desses insetos. Nos últimos anos algumas destas barreiras forma elucidadas permitindo resultados satisfatórios mesmo em espécies que anteriormente eram consideradas não responsivas ao mecanismo de RNAi (Christiaens et al., 2018; Cagliari et al., 2020).

O primeiro relato de RNAi bem-sucedido em lepidópteros de relevância na região Neotropical foi o silenciamento de um oxigenase atuante na rota do triptofano através da injeção de dsRNA em embriões de *Plodia interpunctella* (Fabrick et al 2004). Além deste existem outros trabalhos com lepidópteros encontradas, incluindo *Helicoverpa armigera* (Asokan et al 2013, 2014), *Tuta absoluta* (Camargo et al 2016), *H. zea* (Wang et al 2018a) e *Spodoptera exigua* (Christiaens et al 2018a). Estes estudos revelaram que lepidópteros são geralmente refratários ao silenciamento gênico por RNAi de maneira oral. As causas foram apontadas como a rápida degradação do dsRNA ingerido pelos fluidos digestivos e absorção por organelas celulares (Yoon et al 2017). Estudos sugerem estratégias para melhorar a eficiência do RNAi em lepidópteros, como o uso de dsRNAs modificados ou concatemerizados (Sharath et al 2018; Christiaens et al 2018).

Em coleópteros um estudo seminal publicado por Baum et al., 2007 demonstrou que a geração de milho transgênico expressando dsRNA preveniu o ataque de larvas de *Diabrotica virgifera*. Este trabalho despertou o interesse de muitos cientistas para o uso de RNAi para controle de pragas através de plantas transgênicas. Em setembro de 2016 a Canadian Food Inspection Agency (CFIA) aprovou a comercialização do milho MON87411 (SmartStax PRO) expressando três genes Cry e dsRNA. Na mesma linha, em 2017 a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (US-EPA) também aprovou este evento para plantio comercial. De maneira alternativa outra rota de aplicação é a via não transformativa através da pulverização de dsRNAs, que, em comparação com pesticidas químicos, seria uma alternativa ambientalmente correta, dada sua meia-vida curta no meio ambiente. Mesmo embora as dsRNAs tenham meia vida curta em aplicação foliar, forma suficientemente estáveis por pelo menos 28 dias para controlar o besouro da batata, *Leptinotarsa decemlineata* (San Miguel; Scott, 2016) e da mesma forma com *Diaprepes abbreviatus* (Andrade; Hunter, 2016).

Para a grande maioria dos fungos patogênicos que causam doenças em plantas (ex. ferrugens, oídios) os componentes necessários como Dicer, Argonoute e RdRP estão presente nas espécies de fungos, sendo assim RNAi também pode ser usado para controle de doenças. Por exemplo, Koch et al. 2013 demonstraram que culturas *in vitro* de *Fusarium graminearum* alimentadas com um dsRNA dos genes CYP51A, CYP51B e CYP51C, responsáveis pela biossíntese de ergosterol, resultaram em inibição do crescimento e alterações morfológicas semelhantes às produzidas pelo fungicidas triazóis. Além disso, plantas transgênicas de *Arabidopsis thaliana* e *Hordeum vulgare* (cevada), expressando o mesmo dsRNA (CYP51), mostraram-se altamente resistentes à infecção por *F. graminearum*. Da mesma forma, como foi demonstrado em insetos, dsRNA de CYP3, envolvido na biossíntese do ergosterol fúngico, foi aplicado exogenamente às folhas de cevada para controlar infecções por *F. graminearum* tendo efeito em áreas locais onde o dsRNA foi aplicado, bem como sistematicamente Koch et al. 2016.

O RNAi sistêmico foi descrito no organismo modelo *C. elegans*, que além de sistêmico também pode ser transmitido para a próxima geração (RNAi parental) após injeção de dsRNA ou alimentação. Na agricultura, os nematoides das galhas causam significativas perdas em várias espécies de plantas e em todo o mundo, neste sentido RNAi poderia ser usado para tornar plantas resistentes. Por exemplo, foi descrito que a ingestão de dsRNA do gene 16D1 resultou na redução da infeciosidade do nematoide. Posteriormente, as plantas de *A. thaliana* projetadas para produzir dsRNA direcionado ao mesmo gene mostraram

resistência efetiva contra quatro espécies de *Meloidogyne* (*Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica*, *Meloidogyne arenaria* e *Meloidogyne hapla*) (Huang et al., 2006). Esses resultados demonstraram que dsRNA para 16D10 mostrou redução de 93% no do número de ovos de *Meloidogyne* por grama de raiz quando comparados com plantas controle infectadas. Esta abordagem pode, portanto, ser usada no planejamento de estratégias de controle de nematoides.

Em um contexto de proteção de plantas, o método de entrega (*delivery*) que tem recebido mais atenção até o momento é o uso de plantas transgênicas que produzem dsRNAs específicos para as pragas. A entrega através de plantas transgênica provou-se bem-sucedida na proteção de cultivos pelo exemplo das plantas *Bt* usadas por várias décadas. A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos recentemente registrou quatro produtos (variedades de milho) baseados RNAi chamado 'SmartStax PRO'. A tecnologia Smart-Stax PRO resulta na formação de um transcrito de dsRNA contendo um fragmento de 240 pb do gene *CRWSnf7* (corn rootworm) (Head et al., 2017; Zotti et al., 2018). No entanto, em muitos casos, o uso de culturas transgênicas nem sempre é realista. Isso pode ser por razões políticas ou legislativas, ou porque a cultura em questão é tecnicamente difícil ou impossível de transformar. Vias alternativas de entrega de dsRNA foram, portanto, propostas as quais não envolvem a transformação de plantas. Foi demonstrado que o RNA é translocado através dos sistemas vasculares da planta (Melnik et al., 2011). Assim, a aplicação tópica de dsRNAs em folhas ou ainda aplicações no solo podem ser explorada para suprimir a infestação de pragas (Andrade; Hunter, 2016). Estudos demonstram que plantas adultas de Citrus foram tratadas com dsRNAs por pulverização, enxugamento de raízes ou injeções no tronco. Insetos da Ordem Hemiptera obtiveram dsRNA via alimentação em plantas previamente tratadas (Hunter et al., 2012). Este estudo demonstrou que plantas pulverizadas podem obter dsRNAs permitindo a entrega em ambos os vasos (xilema e floema). Ainda estes resultados possibilitam o desenvolvimento de estratégias de controle para vários insetos, incluindo insetos sugadores, em diferentes cultivos onde a transformação de plantas levaria anos ou seria muito custosa.

Considerações Finais

A era genômica surgiu com o sequenciamento de nova geração, sendo possível, obter um mapa de todos os genes, proteínas e processos interligados, sendo sem dúvida, uma grande oportunidade para desenvolvimento de estratégias biotecnologias aplicadas ao manejo de insetos-praga, patógenos e plantas daninhas. Cabe lembrar que nenhuma das estratégias acima descritas deve ser usada isoladamente, tal como única estratégia de manejo, mas como uma ferramenta adicional e com novo mecanismo de ação. Plantas transgênicas são estratégias consolidadas, muito pelo sucesso adquirido pelas plantas *Bt*, sendo este sucesso usado pela engenharia genética na construção de outras plantas transgênicas, mas expressando dsRNAs específicos para organismos alvos, seja insetos-praga ou patógenos de plantas. O uso de plantas transgênicas expressando dsRNAs traz a vantagem da proteção onipresente durante todo o ciclo da cultura. Por outro lado, a pulverização de dsRNAs fornece apenas uma proteção transitente, sendo necessário novas pulverizações à medida que a planta cresce ou novas folhas surgem. O sistema CRISPR/Cas9 como ferramenta biotecnológica ainda traz muitos questionamentos acerca da segurança. Preconiza-se que a liberação a campo possa se dar através de drivers genéticos podendo levar a extinção da

espécie, as vezes desejável no caso de espécies invasivas, mas não aplicável em todas as situações. Somente teremos mais segurança no uso de CRISPR/Cas9 em larga escala e como manejo rotineiro no momento que tivermos mais conhecimento dos nossos agroecossistemas.

Referências

- ALPHEY, N.; BONSALE, M. B. Genetics-based methods for agricultural insect pest management. **Agricultural and Forest Entomology**, v. 20, n. 2, p. 131-140, 2018.
- ANDERSON, J. A.; ELLSWORTH, P. C.; FARIA, J. C.; HEAD, G. P.; OWEN, M. D. K.; PILCHER, C. D.; SHELTON, A. M.; MEISSE, M. Genetically engineered crops: Importance of diversified integrated pest management for agricultural sustainability. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 7, n. FEB, p. 1-14, 2019a.
- ANDERSON, M. E.; MAVICA, J.; SHACKLEFORD, L.; FLIS, I.; FOCHLER, S.; BASU, S.; ALPHEY, L. CRISPR/Cas9 gene editing in the West Nile Virus vector, *Culex quinquefasciatus* Say. **PLoS ONE**, v. 14, n. 11, p. 1-10, 2019b.
- ANDRADE, E.C.; HUNTER, W.B. RNA interference - natural gene-based technology for highly specific pest control (HiSPeC). In: ABDURAKHMONOV, I. Y. RNA interference, London: **Intech Open**, 2016. p. 391-409. DOI: 10.5772/61612
- ANZALONE, A. V.; KOBLAN, L. W.; LIU, D. R. Genome editing with CRISPR-Cas nucleases, base editors, transposases and prime editors. **Nature Biotechnology**, v. 38, n. 7, p. 824-844, 2020.
- BEUMER, K. J.; TRAUTMAN, J. K.; MUKHERJEE, K.; CARROLL, D. Donor DNA utilization during gene targeting with zinc-finger nucleases. **G3: Genes, Genomes, Genetics**, v. 3, n. 4, p. 657-664, 2013.
- BOWEN, D.; YIN, Y.; FLASINSKI, S.; CHAY, C.; BEAN, G.; MILLIGAN, J. MOAR, W.; PAN, A.; WERNER, B.; BUCKMAN, K.; HOWE, A.; CICHE, T. TURNER, K.; PLEAU, M.; ZHANG, J.; KOUADIO, J. L.; HIBBARD, B. E.; PRICE, P.; ROBERTS, J. Cry75Aa (Mpp75Aa) Insecticidal proteins for controlling the western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte (Coleoptera: Chrysomelidae), isolated from the insect-pathogenic bacterium *Brevibacillus laterosporus*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 87, n. 5, p. e02507-20, 2021. DOI: 0000-0003-2705-7405
- CAGLIARI, D.; DIAS, N. P.; GALDEANO, D. M.; SANTOS, E. A.; SMAGGHE, G.; ZOTTI, M. J. Management of pest insects and plant diseases by non-transformative RNAi. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, e1319, 2019. DOI: 10.3389/fpls.2019.01319
- CAGLIARI, D.; SMAGGHE, G.; ZOTTI, M.; TANING, C. N. T. RNAi and crispr/cas9 as functional genomics tools in the neotropical stink bug, *euschistus heros*. **Insects**, v. 11, n. 12, p. 1-13, 2020.
- CARRIÈRE, Y.; CRICKMORE, N.; TABASHNIK, B. E. Optimizing pyramided transgenic *Bt* crops for sustainable pest management. **Nature Biotechnology**, v.33, p.161, 2015.
- CHAMPER, J.; BUCHMAN, A.; AKBARI, O. S. Cheating evolution: Engineering gene drives to manipulate the fate of wild populations. **Nature Reviews Genetics**, v. 17, n. 3, p. 146-159, 2016.
- CHEN, D.; MOAR, W. J.; JERGA, A.; GOWDA, A.; MILLIGAN, J.S.; BRETZYNDER, E.C.; RYDEL, T.J.; BAUM, J.A.; SEMEAO, A.; FU, X.; GUZOV, V.; GABBERT, K.; HEAD, G.P.; HAAS, J.A. *Bacillus thuringiensis* chimeric proteins Cry1A. 2 and Cry1B. 2 to control soybean lepidopteran pests: New domain combinations enhance insecticidal spectrum of activity and novel receptor contributions. **Plos One**, v. 16, n. 6, p. e0249150, 2021. DOI: 10.1371/journal.pone.0249150
- CHEN, S.; HOU, C.; BI, H.; WANG, Y.; XU, J.; LI, M.; JAMES, A. A.; HUANG, Y.; TAN, A. Transgenic clustered regularly interspaced short palindromic repeat/Cas9-mediated viral gene targeting for antiviral therapy of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus. **Journal of Virology**, v. 91, n. 8, p. 1-13, 2017.
- CHRISTIAENS, O.; TÁRDJOS, M. G.; MARTINEZ, R. Z. L.; DASH, M.; DUBRUEL, P.; SMAGGHE, G. Increased RNAi efficacy in *Spodoptera exigua* via the formulation of dsRNA with guanylated polymers. **Frontiers in Physiology**, v. 9, p.316, 2018. DOI: 10.3389/fphys.2018.00316
- COURTIER-ORGOGOZO, V.; MORIZOT, B.; BOËTE, C. Agricultural pest control with CRISPR-based gene drive: time for public debate. **EMBO Reports**, v. 18, n. 6, p. 878-880, 2017. DOI:10.15252/embr.201744205.
- CTNBIO. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. **Liberações comerciais**. Disponível em: <http://ctnbio.mctc.gov.br/inicio>. Acesso em: 03 dez. 2021.
- DIAS, N. P.; CAGLIARI, D.; SANTOS, E. A.; SMAGGHE, G.; JURAT-FUENTES J. L.; MISHRA, S.; NAVA, D. E.; ZOTTI, M. J. Insecticidal gene silencing by RNAi in the neotropical region. **Neotropical Entomology**, v. 49, n. 1, p. 1-11, 2020. DOI: 10.1007/s13744-019-00722-4.

- DIVELY, G. P.; VENUGOPAL, P. D.; BEAN, D.; WHALEN, J.; HOLMSTROM, K.; KUCHAR, T. P.; DOUGHTY, H. B.; PATTON, T.; CISSEL, W.; HUTCHISON, W. D. Regional pest suppression associated with widespread *Bt* maize adoption benefits vegetable growers. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.115, p.3320-3325, 2018.
- DOUDNA, J. A.; CHARPENTIER, E. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. **Science**, v. 346, n. 6213, 2014.
- DRURY, D. W.; DAPPER, A. L.; SINIARD, D. J.; ZENTNER, G. E.; WADE, M. J. CRISPR/Cas9 gene drives in genetically variable and nonrandomly mating wild populations. **Science Advances**, v. 3, n. 5, p. 1-8, 2017.
- EDGERTON, M. D.; FRIDGEN, J.; ANDERSON JR, J. R.; AHLGRIM, J.; CRISWELL, M.; DHUNGANA, P.; GOCKEN, T.; ZHENG, L.; MARIAPPAN, S.; PILCHER, C.D.; ROSIELLE, A.; STARK, S.B. Transgenic insect resistance traits increase corn yield and yield stability. **Nature Biotechnology**, v.30, p.493-496, 2012.
- ESVELT, K. M.; SMIDLER, A. L.; CATTERUCCIA, F.; CHURCH, G. M. Concerning RNA-guided gene drives for the alteration of wild populations. **eLife**, v. 3, p. 1-21, 2014.
- FABRICK, J.; KANOST, M. R.; BAKER, J. E. RNAi-induced silencing of em- bryonic tryptophan oxygenase in the Pyralid moth, *Plodia interpunctella*. **Journal of Insect Science**, v 4, p.15-23, 2004.
- FARIAS, J. R.; ANDOW, D. A.; HORIKOSHI, R. J.; SORGATTO, R. J.; FRESIA, P.; SANTOS, A. C.; OMOTO, C. Field-evolved resistance to Cry1F maize by *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Crop Protection**, v.64, p.150-158, 2014.
- FATORETTO, J. C.; MICHEL, A. P.; SILVA FILHO, M. C.; SILVA, N. Adaptive potential of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) limits *Bt* trait durability in Brazil. **Journal of Integrated Pest Management**, v.8, p. 1-10, 2017.
- FIRE, A.; ALBERTSON, D.; HARRISON, S. W.; MOERMAN, D. G. Production of antisense RNA leads to effective and specific inhibition of gene expression in *C. elegans* muscle. **Development**, v. 113, n.2, p. 503-514, 1991. DOI: 10.1242/dev.113.2.503
- FIRE, A.; XU, S.; MONTGOMERY, M.K.; KOSTAS, S. A.; DRIVER, S. E.; MELLO, C. C. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. **Nature**, v. 391:806-811, 1998. DOI: 10.1038/35888
- GAJ, T.; GERSBACH, C. A.; BARBASIII, C. F. ZFN, TALEN and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering. **Trends in Biotechnology**, v. 31, n. 7, p. 397-405, 2013. DOI: 10.1016/j.tibtech.2013.04.004
- GANTZ, V. M.; BIER, E. The mutagenic chain reaction: a method for converting heterozygous to homozygous mutations. **Science**, v. 348, n. 6233, p. 442-444, 2015.
- GASIUNAS, G.; BARRANGOU, R.; HORVATH, P.; SIKSNYS, V. Cas9-crRNA ribonucleoprotein complex mediates specific DNA cleavage for adaptive immunity in bacteria. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 109, n. 39, p. 2579-2586, 2012.
- GATEHOUSE, A.; FERRY, N.; EDWARDS, M.; BELL, H. Insect-resistant biotech crops and their impacts on beneficial arthropods. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 366: 1438-1452, 2011. DOI: 10.1098/rstb.2010.0330
- GODFRAY, H. C. J.; BEDDINGTONIAN, J. R.; CRUTE, I. A.; HADDAD, L.; LAWRENCE, D.; MUIR, J. F.; PRETTY, J.; ROBINSONS, S.; THOMAS, S. M.; TOULMIN, C. Food security: the challenge of feeding 9 billion people. **Science**, v. 327, n. 5967, p. 812-818, 2010. DOI: 10.1126/science.1185383
- GOULD, F. Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: integrating pest genetics and ecology. **Annual Review of Entomology**, v.43, p.701-726, 1998.
- GOWDA, A.; RYDEL, T. J.; WOLLACOTT, A. M.; BROWN, R. S.; AKBAR, W.; CLARK, T. L.; FLASINSKI, S.; NAGEOTTE, J. R.; READ, A. C.; SHI, X.; WERNER, B. J.; PLEAU, M. J.; BAUM, J. A. A transgenic approach for controlling *Lygus* in cotton. **Nature communications**, v. 7, n. 1, p. 1-7, 2016.
- GUI, S.; TANDING, C. N. T.; WEI, D.; SMAGGHE, G. First report on CRISPR/Cas9-targeted mutagenesis in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. **Journal of Insect Physiology**, v. 121, p. 104013, 2020. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2020.104013.
- HAMMOND, A.; GALIZI, R.; KYROU, K.; SIMONI, A.; SINISCALCHI, C.; KATSANOS, D.; GRIBBLE, M.; BAKER, D.; MAROIS, E.; RUSSELL, S.; BURT, A.; WINDBICHLER, N.; CRISANTI, A.; NOLAN, T. A CRISPR-Cas9 gene drive system targeting female reproduction in the malaria mosquito vector *Anopheles gambiae*. **Nature Biotechnology**, v. 34, n. 1, p. 78-83, 2016.
- HEAD, G. P.; CARROLL, M. W.; EVANS, S. P.; RULE, D.M.; WILLSE, A. R.; CLARK, T. L. Evaluation of SmartStax and SmartStax PRO maize against western corn rootworm and northern corn rootworm: efficacy and resistance management. **Pest Management Science**, v. 73, p.1883-1899, 2017.
- HELER, R.; SAMAI, P.; MODELL, J. W.; WEINER, C.; GOLDBERG, G. W.; BIKARD, D.; MARRAFFINI, L. A. Cas9 specifies functional viral targets during CRISPR-Cas adaptation. **Nature**, v. 519, n. 7542, p. 199-202, 2015.
- HOLLOMON, D. W. Do we have the tools to manage resistance in the future? **Pest Management Science**, v. 68, p.149-154, 2012.
- HORIKOSHI, R. J.; VERTUAN, H.; CASTRO, A. A.; MORRELL, K.; GRIFFITH, C.; EVANS, A.; TAN, J.; ASIIMWE, P.; ANDERSON, H.; JOSÉ, M. O. M. A.; DOURADO, P. M.; BERGER, G.; MARTINELLI, S.; HEAD, G. A new generation of *Bt* maize for control of fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*). **Pest Management Science**, v. 77, p. 3727-3736, 2021. DOI: 10.1002/ps.6334

- HORIKOSHI, R. J.; BERNARDI, D.; BERNARDI, O.; MALAQUIAS, J.B.; OKUMA, D. M.; MIRALDO, L. L.; AMARAL, F. S. A. E.; OMOTO, C. Effective dominance of resistance of *Spodoptera frugiperda* to *Bt* maize and cotton varieties: implications for resistance management. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 1-8, 2016.
- HUANG, G.; ALLEN, R.; DAVIS, E.L.; BAUM, T.J.; HUSSEY, R.S. Engineering broad root-knot resistance in transgenic plants by RNAi silencing of a conserved and essential root-knot nematode parasitism gene. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, p. 14302-14306, 2006.
- HUNTER, W.B.; GLICK, E.; PALDI, N.; BEXTINE, B.R. Advances in RNA interference: dsRNA treatment in trees and grapevines for insect pest suppression. **Southwest Entomologist**, v. 37, p. 85-87, 2012.
- HUTCHISON, W.D.; BURKNESS, E.C.; MITCHELL, P.D.; MOON, R.D.; LESLIE, T.W.; FLEISCHER, S.J.; ABRAHAMSON, M.; HAMILTON, K.L.; STEFFEY, K.L.; GRAY, M.E.; HELLMICH, R.L.; KASTER, L.V.; HUNTI, T.E.; WRIGHT, R.J.; PECINOVSKY, K.; RABAEY, T.L.; FLOOD, B.R.; RAUN, E. S. Areawide suppression of European corn borer with *Bt* maize reaps savings to non-*Bt* maize growers. **Science**, v.330, p.222-225, 2010.
- JINEK, M.; CHYLINSKI, K.; FONFARA, I.; HAUER, M.; DOUDNA, J. A.; CHARPENTIER, E. A Programmable Dual-RNA - Guided. **Science**, v. 337, p. 816-822, 2012.
- KARAMINEJADRANJBAR, M.; ECKERMANN, K. N.; AHMED, H. M. M.; HÉCTOR SÁNCHEZ, C. M.; DIPPEL, S.; MARSHALL, J. M.; WIMMER, E. A. Consequences of resistance evolution in a Cas9-based sex conversion-suppression gene drive for insect pest management. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 115, n. 24, p. 6189-6194, 2018.
- KIM, J.; KIM, J. S. Bypassing GMO regulations with CRISPR gene editing. **Nature Biotechnology**, v. 34, n. 10, p. 1014-1015, 2016.
- KOCH, A.; BIEDENKOPF, D.; FURCH, A.; WEBER, L.; ROSSBACH, O.; ABDELLATEF, E. An RNAi-based control of *Fusarium graminearum* infections through spraying of long dsRNAs involves a plant passage and is controlled by the fungal silencing machinery. **PLOS Pathogens**, v. 12, e1005901, 2016. DOI: 10.1371/journal.ppat.1005901
- KOCH, A.; KUMAR, N.; WEBER, L.; KELLER, H.; IMANI, J.; KOGEL, K.H. Host-induced gene silencing of cytochrome P450 lanosterol C14-demethylase-encoding genes confers strong resistance to Fusarium species. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, p. 19324-19329, 2013.
- KOONIN, E. V.; MAKAROVA, K. S. CRISPR-Cas: Evolution of an RNA-based adaptive immunity system in prokaryotes. **RNA Biology**, v. 10, n. 5, p. 679-686, 2013.
- KYROU, K.; HAMMOND, A. M.; GALIZI, R.; KRANJC, N.; BURT, A.; BEAGHTON, A. K.; NOLAN, T.; CRISANTI, A. A CRISPR-Cas9 gene drive targeting doublesex causes complete population suppression in caged *Anopheles gambiae* mosquitoes. **Nature Biotechnology**, v. 36, n. 11, p. 1062-1071, 2018.
- LAMICHHANE, J. R.; AUBERTOT, J. N.; BEGG, G.; BIRCH, A. N. E.; BOONEKAMP, P.; DACHBRODT-SAAAYDEH, S.; HANSEN, J. G.; HOVMØLLER, M. S.; JENSEN, J. E.; JØRGENSEN, L. N.; KISS, J.; KUDSK, P.; MOONEN, A. C.; RASPLUS, J. Y.; SATTIN, M.; STREITO, J. C.; MESSÉAN, A. Networking of integrated pest management: A powerful approach to address common challenges in agriculture. **Crop Protection**, v. 89, p. 139-151, 2016.
- LIU, L.; SCHEPERS, E.; LUM, A.; RICE, J.; YALPANI, N.; GERBER, R.; JIMÉNEZ-JUÁREZ, N.; HAILE, F.; PASCUAL, A.; BARRY, J.; QI, X.; KASSA, A.; HECKERT, M.J.; XIE, W.; DING, C.; ORAL, J.; NGUYEN, M.; LE, J.; PROCYK, L.; DIEHN, S.H.; CRANE, V.C.; DAMUDE, H.; PILCHER, C.; BOOTH, R.; LIU, L.; ZHU, G.; NOWATZKI, T.M.; NELSON, M.E.; LU, A.L.; WU, G. Identification and evaluations of novel insecticidal proteins from plants of the class Polytrichopsida for crop protection against key lepidopteran pests. **Toxins**, v. 11, n. 7, p. 383, 2019.
- LU, Y.; WU, K.; JIANG, Y.; GUO, Y.; DESNEUX, N. Widespread adoption of *Bt* cotton and insecticide decrease promotes biocontrol services. **Nature**, v.487, p.362-365, 2012.
- MA, S.; CHANG, J.; WANG, X.; LIU, Y.; ZHANG, J.; LU, W.; GAO, J.; SHI, R.; ZHAO, P.; XIA, Q. CRISPR/Cas9 mediated multiplex genome editing and heritable mutagenesis of *BmKu70* in *Bombyx mori*. **Scientific Reports**, v. 4, p. 1-6, 2014.
- MACHADO, E. P.; RODRIGUES JUNIOR, G. L. S.; FÜHR, F. M.; ZAGO, S. L.; MARQUES, L. H.; SANTOS, A. C.; NOWATZKI, T.; DAHMER, M. L.; OMOTO, C.; BERNARDI, O. Cross-crop resistance of *Spodoptera frugiperda* selected on *Bt* maize to genetically-modified soybean expressing Cry1Ac and Cry1F proteins in Brazil. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1-9, 2020.
- MELNYK, C.W.; MOLNAR, A.; BAULCOMBE, D.C. Intercellular and systemic movement of RNA silencing signals. **European Molecular Biology Organization Journal**, v. 30, p.3553-3563, 2011.
- MENDELSON, M.; KOUGH, J.; VAITUZIS, Z.; MATTHEWS, K. Are *Bt* crops safe? **Nature Biotechnology**, v.21, p.1003-1009, 2003.
- NAITO, Y.; HINO, K.; BONO, H.; UI-TEI, K. CRISPRdirect: Software for designing CRISPR/Cas guide RNA with reduced off-target sites. **Bioinformatics**, v. 31, n. 7, p. 1120-1123, 2015.
- ORERKE, E. C. Crop losses to pests. **Journal of Agricultural Science**, v. 144, p. 31-43, 2006.

- OERKE, E.C.; DEHNE, H.W.; SCHONBECK, F.; WEBER, A. **Crop production and crop protection – estimated losses in major food and cash crops**. Amsterdam: Elsevier Science, 1994. 600 p.
- OMOTO, C.; BERNARDI, O.; SALMERON, E.; SORGATTO, R. J.; DOURADO, P. M.; CRIVELLARI, A.; CARVALHO, R. A.; WILLSE, A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G. Field-evolved resistance to Cry1Ab maize by *Spodoptera frugiperda* in Brazil. **Pest and Management Science**, v.72, p.1727-1736, 2016.
- RODE, N. O.; ESTOUP, A.; BOURGUET, D.; COURTIER-ORGOGOZO, V.; DÉBARRE, F. Population management using gene drive: molecular design, models of spread dynamics and assessment of ecological risks. **Conservation Genetics**, v. 20, n. 4, p. 671–690, 2019. DOI: 10.1007/s10592-019-01165-5.
- SAN MIGUEL, K.; SCOTT, J. G. The next generation of insecticides: DsRNA is stable as a foliar-applied insecticide. **Pest Management Science**, v. 4, p. 801-809, 2016.
- SANDER, J. D.; JOUNG, J. K. CRISPR-Cas systems for editing, regulating and targeting genomes. **Nature Biotechnology**, v. 32, n. 4, p. 347-350, 2014.
- SCELLENBERGER, U.; ORAL, J.; ROSEN, B. A.; WEI, J. ZHU, G.; XIE, W.; MCDONALD, M. J.; CERF, D. C.; DIEHN, S. H.; CRANE, V. C.; SANDAHL, G. A.; ZHAO, J.; NOWATZKI, T. M.; SETHI, A.; LIU, L.; PAN, Z.; WANG, Y.; LU, A. L.; WU, G.; LIU, L. A selective insecticidal protein from *Pseudomonas* for controlling corn rootworms. **Science**, v. 354, n. 6312, p. 634-637, 2016.
- SHARATH, C.G.; ASOKAN, R.; MANAMOHAN, M.; KRISHNA, K.N. Enhancing RNAi by using concatemeric double-stranded RNA. **Pest Management Science**, v. 75, p. 506-514, 2018.
- SHUKLA, A. K.; UPADHYAY, S. K.; MISHRA, M.; SAURABH, S.; SINGH, R.; SINGH, H.; THAKUR, N.; RAI, P.; PANDEY, P.; HANS, A. L.; SRIVASTAVA, S.; RAJAPURE, V. YADAV, S. K.; SINGH, M. K.; KUMAR, J.; CHANDRASHEKAR, K.; VERMA, P. C.; SINGH, A. P.; NAIR, K. N.; BHADAURIA, S.; WAHAJUDDIN, M.; SINGH, S.; SHARMA, S.; OMKAR; UPADHYAY, R. S.; RANADE, S. A.; TULI, R.; SINGH, P. K. Expression of an insecticidal fern protein in cotton protects against whitefly. **Nature Biotechnology**, v. 34, n. 10, p. 1046-1051, 2016. DOI: 10.1038/nbt.3665
- SILVA-BRANDÃO, K. L.; HORIKOSHI, R. J.; BERNARDI, D.; OMOTO, C.; FIGUEIRA, A.; BRANDÃO, M. M. Transcript expression plasticity as a response to alternative larval host plants in the speciation process of corn and rice strains of *Spodoptera frugiperda*. **BMC Genomics**, v.18, p.792, 2017.
- SUN, D.; GUO, Z.; LIU, Y.; ZHANG, Y. Progress and prospects of CRISPR/Cas systems in insects and other arthropods. **Frontiers in Physiology**, v. 8, p. 1-22, 2017. DOI: 10.3389/fphys.2017.00660
- TABASHNIK, B. E. Evolution to resistance to *Bacillus thuringiensis*. **Annual Review of Entomology**, v.39, p.47-79, 1994.
- TABASHNIK, B. E.; BRÉVAULT, T.; CARRIÈRE, Y. Insect resistance to *Bt* crops: lessons from the first billion acres. **Nature Biotechnology**, v.31, p.510-521, 2013.
- TABASHNIK, B. E.; RENSBURG, V. J. B. J.; CARRIÈRE, Y. Field-evolved insect resistance to *Bt* crops: Definition, theory, and data. **Journal of Economic Entomology**, v.102, p.2011-2025, 2009.
- TANING, C. N. T.; VAN EYNDE, B.; YU, N.; MA, S.; SMAGGHE, G. CRISPR/Cas9 in insects: Applications, best practices and biosafety concerns. **Journal of Insect Physiology**, v. 98, p. 245-257, 2017.
- THURTELL-SCHMIDT, D. M.; LO, T. W. Molecular biology at the cutting edge: A review on CRISPR/CAS9 gene editing for undergraduates. **Biochemistry and Molecular Biology Education**, v. 46, n. 2, p. 195-205, 2018.
- WANG, T.; ZHANG, H.; ZHU, H. CRISPR technology is revolutionizing the improvement of tomato and other fruit crops. **Horticulture Research**, v. 6, n. 1, 2019. DOI: 10.1038/s41438-019-0159-x
- WANG, Y.; LI, Z.; XU, J.; ZENG, B.; LING, L.; YOU, L.; CHEN, Y.; HUANG, Y.; TAN, A. The CRISPR/Cas System mediates efficient genome engineering in *Bombyx mori*. **Cell Research**, v. 23, n. 12, p. 1414-1416, 2013.
- WANG, Y.; WANG, J.; FU, X.; NAGEOTTE, J. R.; SILVERMAN, J.; BRETSNYDER, E. C.; CHEN, D.; RYDEL, T. J.; BEAN, G. J.; LI, K. S.; KRAFT, E.; GOWDA, A.; NANCE, A.; MOORE, R. G.; PLEAU, M. J.; MILLIGAN, J. S.; ANDERSON, H. M.; ASIMWE, P.; EVANS, A.; MOAR, W. J.; MARTINELLI, S.; HEAD, G. P.; HAAS, J. A.; BAUM, J. A.; YANG, F.; KERNS, D. L.; JERGA, A. *Bacillus thuringiensis* Cry1Da₇ and Cry1B. 868 protein interactions with novel receptors allow control of resistant fall armyworms, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Applied and Environmental Microbiology**, v. 85, n. 16, p. e00579, 2019. DOI: 10.1128/AEM.00579-19
- WEI, W.; XIN, H.; ROY, B.; DAL, J.; MIAO, Y.; GAO, G. Heritable genome editing with CRISPR/Cas9 in the silkworm, *Bombyx mori*. **PLoS ONE**, v. 9, n. 7, 2014.
- XU, J.; XU, X.; ZHAN, S.; HUANG, Y. Genome editing in insects: current status and challenges. **National Science Review**, v. 6, n. 3, p. 394-396, 2019.
- XUE, W. H.; XU, N.; YUAN, X. B.; CHEN, H. H.; ZHANG, J. L.; FU, S. J.; ZHANG, C. X.; XU, H. J. CRISPR/Cas9-mediated knockout of two eye pigmentation genes in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae). **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 93, n. 2018, p. 19-26, 2018. DOI: 10.1016/j.ibmb.2017.12.003.

YE, Z.-F.; LIU, X.-L.; HAN, Q.; LIAO, H.; DONG, X.-T.; ZHU, G.-H.; DONG, S.-L. Functional characterization of PBP1 gene in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) by using the CRISPR/Cas9 system. *Scientific Reports*, v. 7, n. 1, p. 8470, 2017. DOI: 41598-017-08769-2.

YOON, J.; MOGILICHERLA, K.; GURUSAMY, D.; CHEN, X.; CHEREDDY S.; PALLI, S.R. Double-stranded S RNA binding protein, Staufén, is required for the initiation of RNAi in coleopteran insects. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 115, p. 8334-8833, 2018.

ZOTTI, M.; SANTOS, E.A.; CAGLIARI, D.; CHRISTIAENS, O.; TANING, C.N.T.; SMAGGHE, G. RNA interference technology in crop protection against arthropod pests, pathogens and nematodes. *Pest Management Science*, v. 6, p. 1239-1250, 2018.

Embrapa

Soja

PARCERIA:

UTFPR

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ



BIOTROP

Soluções em Tecnologia Biológica

MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



PÁTRIA AMADA
BRASIL
GOVERNO FEDERAL

